

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
11. Januar 2001 (11.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/01930 A2**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **A61K 7/00**

(21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP00/05813**

(22) Internationales Anmeldedatum:  
23. Juni 2000 (23.06.2000)

(25) Einreichungssprache: **Deutsch**

(26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**

(30) Angaben zur Priorität:  
199 30 335.5 2. Juli 1999 (02.07.1999) DE

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): **HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN [DE/DE]**; Henkelstrasse 67, D-40589 Düsseldorf (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): **KROPE, Christian [DE/DE]**; Cäcilienstrasse 4, D-40597 Düsseldorf (DE). **DOEHANE, Hans [DE/DE]**; Bendgasse 20, D-41352 Glehn (DE). **ROTH, Marcel [DE/DE]**; Weststrasse 17, D-40591 Düsseldorf (DE). **BRÜNINGHAUS, Ulrike [DE/DE]**; An der Dorfstrasse 6, D-40789 Monheim (DE). **WEISS, Albrecht [DE/DE]**; Forellenweg 37, D-40764 Langenfeld (DE). **SCHÖRKEN, Ulrich [DE/DE]**;

Neustrasse 12, D-42799 Leichlingen (DE). **KINTRUP, Lothar [DE/DE]**; An der Garather Motte 15, D-40595 Düsseldorf (DE). **PASTURA, Amerigo [DE/DE]**; Sauerbruchstrasse 3a, D-58453 Witten (DE). **WÜLKKNITZ, Peter [DE/DE]**; Im Erlengrund 9, D-42799 Leichlingen (DE). **KNIER, Rüdiger [DE/DE]**; Wupperstrasse 26a, D-40764 Langenfeld (DE). **ESCHEN, Burkhard [DE/DE]**; Döberitzer Strasse 18, D-40599 Düsseldorf (DE). **MÉINDERS, Michael [DE/DE]**; Am Eichenhof 11, D-47800 Krefeld (DE). **LASKA, Hans [DE/DE]**; Sperberstrasse 10, D-40627 Düsseldorf (DE). **MÜLLNER, Stefan [DE/DE]**; Hagebuttenweg 21, D-40764 Langenfeld (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AU, BR, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, MX, NO, PL, SK, US.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht:

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

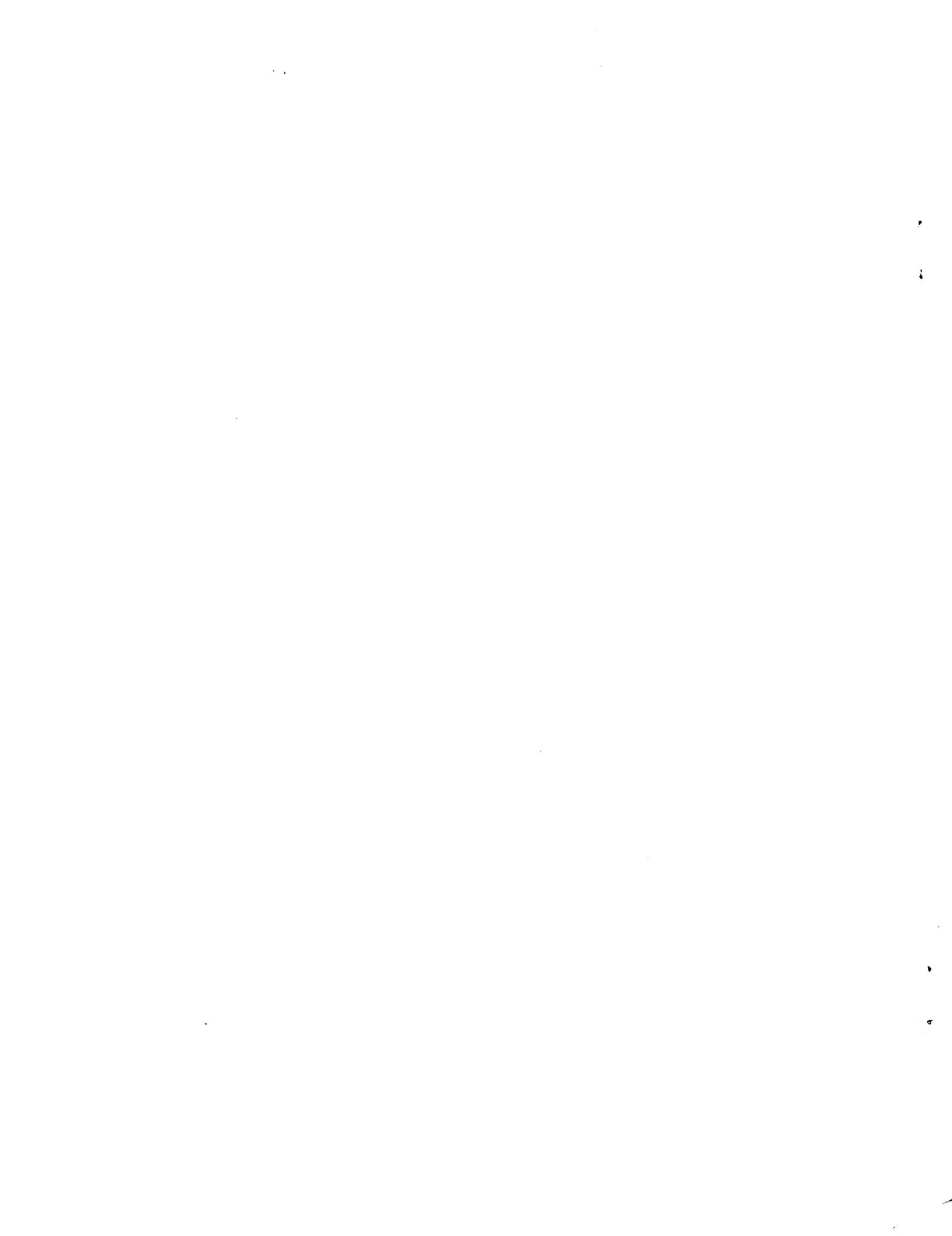
(54) Title: COMPOSITE MATERIALS COMPRISED OF CALCIUM COMPOUNDS AND PROTEIN CONSTITUENTS

(54) Bezeichnung: KOMPOSITMATERIALIEN AUS CALCIUMVERBINDUNGEN UND PROTEINKOMPONENTEN

(57) Abstract: The invention relates to composite materials comprising calcium salts, such as calcium phosphates and calcium fluorophosphates, which are poorly soluble in water, whereby the calcium salts are provided in the form of nanoparticulate particles having an average particle diameter ranging from 10 to 300 nm. The inventive composite materials also comprise protein constituents selected from proteins, protein hydrolyzates, and protein hydrolyzate derivatives. Said composite materials are suited for use as remineralizing constituents in compositions for cleaning and caring for teeth as well as for promoting the regeneration of bone tissue.

(57) Zusammenfassung: Kompositmaterialien umfassend in Wasser schwerlösliche Calciumsalze wie z.B. Calcium-Phosphate und -Fluorophosphate, wobei die Calciumsalze in Form von nanopartikulären Teilchen mit einem mittleren Teilchendurchmesser im Bereich von 10 bis 300 nm vorliegen, und Proteinkomponenten ausgewählt aus Proteinen, Proteinhydrolysaten und Proteinhydrolysat-Derivaten eignen sich als remineralisierende Komponenten in Zusammensetzungen zur Reinigung und Pflege der Zähne sowie zur Förderung der Neubildung von Knochengewebe.

**WO 01/01930 A2**



## "Kompositmaterialien aus Calciumverbindungen und Proteinkomponenten"

Die Erfindung betrifft Kompositmaterialien aus nanopartikulären schwer wasserlöslichen Calciumsalzen und Proteinkomponenten, die sich aufgrund ihrer Zusammensetzung und Feinstruktur besonders zur Förderung der Wiederherstellung von Knochen und Zahnschmelz eignen.

Phosphatsalze des Calciums werden seit langem sowohl als Abrasivkomponenten als auch zur Förderung der Remineralisierung des Zahnschmelzes den Rezepturen von Zahnreinigungsmitteln und Zahnpflegemitteln zugesetzt. Dies gilt insbesondere für Hydroxylapatit und Fluorapatit sowie für amorphe Calciumphosphate und für Brushit (Dicalciumphosphat-dihydrat). Auch Calciumfluorid ist als Bestandteil von Zahnreinigungsmitteln und als Komponente zur Festigung des Zahnschmelzes und zur Kariesprophylaxe mehrfach beschrieben worden.

Die Verfügbarkeit von Calcium-Verbindungen für die erwünschte Remineralisierung hängt ganz entscheidend von der Teilchengröße dieser in Wasser schwerlöslichen und in den Zahnpflegemitteln dispergierten Komponenten ab. Man hat daher vorgeschlagen, diese schwerlöslichen Calciumsalze in feinster Verteilung einzusetzen.

Der Zahnschmelz sowie das Stützgewebe der Knochen bestehen überwiegend aus dem Mineral Hydroxylapatit. Im biologischen Entstehungsprozeß lagert sich Hydroxylapatit in geordneter Weise an die Proteinmatrix im Knochen oder Zahn an, die überwiegend aus Kollagen besteht. Die Ausbildung der harten und belastungsfähigen mineralischen Strukturen wird dabei durch die sogenannten Matrixproteine gesteuert, welche neben Kollagen durch weitere Proteine gebildet werden, die sich an das Kollagen anlagern und so einen strukturierten Mineralisationsprozeß, der auch als Biomineralisierung bezeichnet wird, bewirken.

- 2 -

Bei der Wiederherstellung von Knochenmaterial spielen sogenannte Knochenersatzmittel, welche den natürlichen Biomineralisationsprozeß fördern, eine wichtige Rolle. Derartige Mittel werden auch benötigt zur Beschichtung von Implantaten, um stoffschlüssige Verbindungen zwischen Knochen und Implantat zu erreichen, mit denen auch Zugkräfte übertragen werden können. Von besonderer Bedeutung sind hier Beschichtung mit einer hohen Bioaktivität, die zu einer wirksamen Verbundosteogenese führen. Nach dem Stand der Technik, wie ihn z. B. G. Willmann in Mat.-wiss. u. Werkstofftech. 30 (1999), 317 beschreibt, wird in der Regel Hydroxylapatit auf Implantate aufgebracht. Nachteilig an dieser Vorgehensweise ist neben der oft unzureichenden Beschleunigung des Biomineralisationsprozesses das Abplatzen der Hydroxylapatit-Schichten und ihre unbefriedigende chemische Stabilität.

Für bestimmte Anwendungen werden flüssig injizierbare Knochenersatzmaterialien benötigt. Hier ist eine besonders geringe Teilchengröße erforderlich, die bei den herkömmlichen Knochenersatzmitteln jedoch nicht in befriedigender Weise erzielt werden kann.

Unter den Knochenersatzmitteln sind Komposite aus Hydroxylapatit und Kollagen von besonderem Interesse, da sie die Zusammensetzung des natürlichen Knochens nachahmen. Eine ähnliche Situation herrscht bei der Wiederherstellung von Zahnmaterial, das zu etwa 95 % aus Hydroxylapatit besteht.

Kompositmaterialien der beschriebenen Art sind auf synthetischem Weg zugänglich, wie z. B. von B. Flautre et al. in J. Mater. Sci.: Mater. In Medicine 7 (1996), 63 beschrieben. Jedoch liegt in diesen Kompositen die Korngröße der Calciumsalze oberhalb von 1000 nm, was zu groß ist, um eine befriedigende biologische Wirkung als Remineralisierungsmittel zu erzielen.

- 3 -

Demgegenüber beschreibt R. Z. Wang et al., J. Mater. Sci. Lett. **14** (1995), 490 ein Herstellungsverfahren für ein Kompositmaterial aus Hydroxylapatit und Kollagen, in welchem Hydroxylapatit mit einer Partikelgröße im Bereich von 2 bis 10 nm in gleichmäßig verteilter Form auf der Kollagenmatrix abgeschieden wird. Das Kompositmaterial soll gegenüber anderen aus dem Stand der Technik bekannten Hydroxylapatit-Kollagen-Kompositen aufgrund der Feinteiligkeit des Hydroxylapatits eine bessere biologische Wirksamkeit haben. Wie im folgenden beschrieben, erfüllt jedoch auch das von R. Z. Wang et al. beschriebene Kompositmaterial nicht ausreichend das Bedürfnis nach Kompositmaterialien, welche die Zusammensetzung und die Mikrostruktur natürlichen Knochen- und Zahnmaterials nachahmen und in voll befriedigender Weise zur Remineralisation dieser natürlichen Materialien geeignet sind.

Aus dem Stand der Technik bekannte proteinhaltige Kompositmaterialien enthalten Proteine tierischer Herkunft, insbesondere aus bovinem Material gewonnene. Besonders in der Kosmetik besteht jedoch seit einigen Jahren ein zunehmender Wunsch nach Produkten, die gänzlich frei von Inhaltsstoffen tierischen Ursprungs sind. Es besteht daher ein Bedürfnis auch nach solchen Kompositmaterialien, welche keine Proteinkomponenten tierischen Ursprungs enthalten.

Ein weiterer Nachteil von aus dem Stand der Technik bekannten proteinhaltigen Kompositmaterialien besteht in ihrer oft aufwendigen Herstellung. So muß beispielsweise bei der Herstellung des bei R. Z. Wang et al. beschriebenen Komposit aus Hydroxylapatit und Kollagen unlösliches Kollagen gehandhabt und in sehr großen Lösungsmittelmengen verteilt werden, was technisch aufwendig ist. Dieses Verfahren wirft zusätzlich Probleme hinsichtlich der Entsorgung der bei der Herstellung anfallenden Abwässer auf.

Weiterhin wiesen die aus dem Stand der Technik bekannten proteinhaltigen Kompositmaterialien, beispielsweise bedingt durch ihren Gehalt an unlöslichen

- 4 -

und/oder hochmolekularen Proteinkomponenten, eine ungünstige Dispergierbarkeit auf und sind in die für ihre gewerbliche Anwendung erforderlichen Formulierungen schlecht einarbeitbar oder weisen eine unbefriedigende Dispersionsstabilität in den zum Gebrauch kommenden Zubereitungen auf.

Es wurde nun gefunden, daß bestimmte Kompositmaterialien zur Überwindung von vorstehend genannten Nachteilen des Stands der Technik geeignet sind.

Gegenstand der Erfindung sind Kompositmaterialien umfassend

- a) in Wasser schwerlösliche Calciumsalze, ausgewählt aus Phosphaten, Fluoriden und Fluorophosphaten, die wahlweise zusätzlich Hydroxyl- und/oder Carbonat-Gruppen enthalten können, wobei die Calciumsalze in Form von nanopartikulären Primärteilchen mit einem mittleren Teilchendurchmesser im Bereich von 10 bis 300 nm vorliegen, und
- b) Proteinkomponenten, ausgewählt aus Proteinen, Proteinhydrolysaten und Proteinhydrolysat-Derivaten umfassen.

Unter Kompositmaterialien werden Verbundstoffe verstanden, welche die unter a) und b) genannten Komponenten umfassen und mikroskopisch heterogene, makroskopisch aber homogen erscheinende Aggregate darstellen, und in welchen die Primärpartikel der Calciumsalze an das Gerüst der Proteinkomponente assoziiert vorliegen. Der Anteil der Proteinkomponenten in den Kompositmaterialien liegt zwischen 0,1 und 60 Gew.-%, bevorzugt jedoch zwischen 0,5 und 10 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Kompositmaterialien.

Unter Primärteilchen werden die Kristallite, d. h. die Einzelkristalle der genannten Calciumsalze verstanden. Als Teilchendurchmesser soll hier der Durchmesser r

- 5 -

der Teilchen in Richtung ihrer größten Längenausdehnung verstanden werden. Unter dem mittleren Teilchendurchmesser ist ein über die Gesamtmenge des Kompositgemischs gemittelter Wert zu verstehen. Die Bestimmung der Teilchendurchmesser kann durch den Fachmann geläufige Methoden bestimmt werden, beispielsweise durch die Methode der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM).

Vorzugsweise liegt der mittlere Teilchendurchmesser der nanopartikulären Primärteilchen im Bereich von 10 bis 150 nm, und besonders bevorzugt liegen sie als stäbchenförmige Partikel vor mit einer Dicke im Bereich von 2 bis 50 nm und einer Länge im Bereich von 10 bis 150 nm. Unter Dicke ist hier der kleinste Durchmesser der Stäbchen zu verstehen, unter Länge ihr größter Durchmesser.

Die räumliche Struktur der erfindungsgemäßen Kompositmaterialien aus einer Proteinkomponente sowie den schwerlöslichen nanopartikulären Calciumsalzen wird am Beispiel der in Abbildung 1 dargestellten TEM-Aufnahme eines Kompositmaterials aus Hydroxylapatit und Gelatine Typ A deutlich (200.000-fache Vergrößerung; 1 cm in der Abbildung entspricht 40 nm). Der hochmolekularen Proteinkomponente, die eine im wesentlichen durch ihre Aminosäuresequenz bestimmte dreidimensionale Struktur einnimmt, sind die stäbchenförmigen Nanopartikel aus Hydroxylapatit aufgelagert, die Nanopartikel bilden also gewissermaßen die räumliche Struktur der Proteinkomponente ab. Dies wird deutlich anhand von Abbildung 2, welche eine TEM-Aufnahme des Gelatine Typ A – Gerüsts des gleichen Kompositmaterials nach Herauslösen des Hydroxylapatits mittels einer Lösung von Ethylendiamintetraacetat zeigt (56.000-fache Vergrößerung; 1,1 cm in der Abbildung entspricht 200 nm). Die Art und Weise der Anlagerung der anorganischen Partikel an das Grundgerüst der Proteinkomponente wird durch die Primärstruktur (Aminosäuresequenz) sowie je nach der Natur der Proteinkomponente ihrer Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur bestimmt. Überraschend rweise wurde gefunden, daß die räumliche Verteilung und der quantitative Umfang der Anlagerung der

- 6 -

anorganischen Nanopartikel an die Proteinkomponente durch die Art und Menge der in der Proteinkomponente vorliegenden Aminosäuren und damit durch die Auswahl der Proteinkomponenten beeinflußt werden kann. So kann beispielsweise durch die Auswahl von Proteinkomponenten, die reich an den Aminosäuren, Asparaginsäure, Glutaminsäure oder Cystein sind, eine besonders hohe Beladung mit dem schwerlöslichen Calciumsalz erreicht werden. Je nach der räumlichen Verteilung dieser Aminosäuren im Proteingerüst kann darüber hinaus eine räumlich in bestimmter Weise strukturierte Beladung der Proteinkomponente mit dem schwerlöslichen Calciumsalz erreicht werden.

Die erfindungsgemäßen Kompositmaterialien sind also strukturierte Kompositmaterialien im Gegensatz zu dem bei R. Z. Wang et al. beschriebenen Komposit aus Hydroxylapatit und Kollagen, in welchem gleichmäßig verteilte Hydroxylapatit-Nanopartikel vorliegen. Ein weiterer wesentlicher Unterschied zwischen dem Gegenstand der vorliegenden Erfindung und dem Stand der Technik besteht in der Größe und Morphologie der anorganischen Komponente. Die in dem von R. Z. Wang et al. beschriebenen Hydroxylapatit-Kollagen-Komposit vorliegenden Hydroxylapatit-Teilchen haben eine Größe von 2-10 nm. Hydroxylapatit-Partikel in diesem Größenbereich sind dem Bereich der amorphen oder teilweise röntgenamorphen Stoffe zuzurechnen.

Überraschenderweise gelang es mit der vorliegenden Erfindung, Kompositmaterialien mit kristallinen anorganischen Nanopartikeln zu erzeugen, in welchen die Nanopartikel eine mikroskopisch deutlich erkennbare kristalline Morphologie aufweisen. Abbildung 1 zeigt die stäbchenförmige Struktur der anorganischen Nanopartikel. Es wurde weiterhin gefunden, daß die erfindungsgemäßen strukturierten Kompositmaterialien im Gegensatz zum Stand der Technik zu einen besonders effektiven Biomineralisationsprozeß führen. Es wird angenommen, daß dies mit der Mikrostruktur des Kompositmaterials und insbesondere der Größe und Morphologie der Calciumsalz-Kristalle zusammenhängt. So wird angenommen, daß die Längsachse der Calciumsalz-

- 7 -

Nanopartikel eine Vorzugsrichtung für das weitere Kristallwachstum während der Biomineralisation darstellt.

Als in Wasser schwerlöslich sollen solche Salze verstanden werden, die bei 20 °C zu weniger als 1 g/l löslich sind. Bevorzugt geeignete Calciumsalze sind Calciumhydroxyphosphat ( $\text{Ca}_5[\text{OH}(\text{PO}_4)_3]$ ) bzw. Hydroxylapatit, Calciumfluorphosphat ( $\text{Ca}_5[\text{F}(\text{PO}_4)_3]$ ) bzw. Fluorapatit, Fluor-dotierter Hydroxylapatit der allgemeinen Zusammensetzung  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH},\text{F})$  und Calciumfluorid ( $\text{Ca F}_2$ ) bzw. Fluorit (Flußspat).

Als Calciumsalz kann in den erfindungsgemäßen Kompositmaterialien eines oder auch mehrere Salze im Gemisch, ausgewählt aus der Gruppe von Phosphaten, Fluoriden und Fluorophosphaten, die wahlweise zusätzlich Hydroxyl- und/oder Carbonat-Gruppen enthalten können, im Gemisch enthalten sein.

Als Proteine kommen im Rahmen der vorliegenden Erfindung grundsätzlich alle Proteine unabhängig von ihrem Ursprung oder ihrer Herstellung in Betracht. Beispiele für Proteine tierischen Ursprungs sind Keratin, Elastin, Kollagen, Fibroin, Albumin, Casein, Molkeprotein, Plazentaprotein. Erfindungsgemäß bevorzugt aus diesen sind Kollagen, Keratin, Casein, Molkeprotein, Proteine pflanzlichen Ursprungs wie beispielsweise Weizen- und Weizenkeimprotein, Reisprotein, Sojaprotein, Haferprotein, Erbsenprotein, Kartoffelprotein, Mandelprotein und Hefeprotein können erfindungsgemäß ebenfalls bevorzugt sein.

Unter Proteinhydrolysaten sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung Abbauprodukte von Proteinen wie beispielsweise Kollagen, Elastin, Casein, Keratin, Mandel-, Kartoffel-, Weizen-, Reis- und Sojaprotein zu verstehen, die durch saure, alkalische und / oder enzymatische Hydrolyse der Proteine selbst oder ihrer Abbauprodukte wie beispielsweise Gelatine erhalten werden. Für den enzymatischen Abbau sind alle hydrolytisch wirkenden Enzyme geeignet, wie z.

- 8 -

B. alkalische Proteasen. Weitere geeignete Enzyme sowie enzymatische Hydrolyseverfahren sind beispielsweise beschrieben in K. Drauz und H. Waldmann, Enzyme Catalysis in Organic Synthesis, VCH-Verlag, Weinheim 1975. Bei dem Abbau werden die Proteine in kleinere Untereinheiten gespalten, wobei der Abbau über die Stufen der Polypeptide über die Oligopeptide bis hin zu den einzelnen Aminosäuren gehen kann. Zu den wenig abgebauten Proteinhydrolysaten zählt beispielsweise die im Rahmen der vorliegenden Erfindung bevorzugte Gelatine, welche Molmassen im Bereich von 15000 bis 250000 D aufweisen kann. Gelatine ist ein Polypeptid, das vornehmlich durch Hydrolyse von Kollagen unter sauren (Gelatine Typ A) oder alkalischen (Gelatine Typ B) Bedingungen gewonnen wird. Die Gelstärke der Gelatine ist proportional zu ihrem Molekulargewicht, d. h., eine stärker hydrolysierte Gelatine ergibt eine niedrige viskose Lösung. Die Gelstärke der Gelatine wird in Bloom-Zahlen angegeben. Bei der enzymatischen Spaltung der Gelatine wird die Polymergröße stark erniedrigt, was zu sehr niedrigen Bloom-Zahlen führt.

Weiterhin sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung als Proteinhydrolysate bevorzugt die in der Kosmetik gebräuchlichen Proteinhydrolysate mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht im Bereich von 600 bis 4000, besonders bevorzugt von 2000 bis 3500. Übersichten zu Herstellung und Verwendung von Proteinhydrolysaten sind beispielsweise von G. Schuster und A. Domsch in Seifen Öle Fette Wachse 108, (1982) 177 bzw. Cosm.Teil. 99, (1984) 63, von H. W. Steisslinger in Parf.Kosm. 72, (1991) 556 und F. Aurich et al. in Tens.Surf.Det. 29, (1992) 389 erschienen. Vorzugsweise werden erfindungsgemäß Proteinhydrolysate aus Kollagen, Keratin, Casein sowie pflanzlichen Proteinen eingesetzt, beispielsweise solche auf Basis von Weizengluten oder Reisprotein, deren Herstellung in den beiden Deutschen Patentschriften DE 19502167 C1 und DE 19502168 C1 (Henkel) beschrieben wird.

- 9 -

Unter Proteinhydrolysat-Derivaten sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung chemisch und / oder chemoenzymatisch modifizierte Proteinhydrolysate zu verstehen wie beispielsweise die unter den INCI-Bezeichnungen Sodium Cocoyl Hydrolyzed Wheat Protein, Laurdimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Wheat Protein, Potassium Cocoyl Hydrolyzed Collagen, Potassium Undecylenoyl Hydrolyzed Collagen und Laurdimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Collagen bekannten Verbindungen. Vorzugsweise werden erfindungsgemäß Derivate aus Proteinhydrolysaten des Kollagens, Keratins und Caseins sowie pflanzlichen Proteinhydrolysaten eingesetzt wie z. B. Sodium Cocoyl Hydrolyzed Wheat Protein oder Laurdimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Wheat Protein.

Weitere Beispiele für Proteinhydrolysate und Proteinhydrolysat-Derivate, die unter den Rahmen der vorliegenden Erfindung fallen, sind beschrieben in CTFA 1997 International Buyers' Guide, John A. Wenninger et al. (Ed.), The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association, Washington DC 1997, 686-688.

Die Proteinkomponente kann in jedem der erfindungsgemäßen Kompositmaterialien durch einen oder mehrere Stoffe ausgewählt aus der Gruppe von Proteinen, Proteinhydrolysaten und Proteinhydrolysat-Derivaten gebildet werden.

Als Proteinkomponenten bevorzugt sind alle strukturbildenden Proteine, Proteinhydrolysate und Proteinhydrolysat-Derivate, worunter solche Proteinkomponenten zu verstehen sind, die aufgrund ihrer chemischen Konstitution bestimmte dreidimensionale räumliche Strukturen ausbilden, die dem Fachmann aus der Proteinchemie unter den Begriffen Sekundär-, Tertiär- oder auch Quartärstruktur geläufig sind.

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung können die in den Kompositmaterialien vorliegenden nanopartikulären Calciumsalz-Primärteilchen von einem oder mehreren Oberflächenmodifikationsmitteln umhüllt sein.

- 10 -

Dadurch kann beispielsweise die Herstellung von Kompositmaterialien in solchen Fällen erleichtert werden, bei welchen sich die nanopartikulären Calciumsalze schwer dispergieren lassen. Das Oberflächenmodifikationsmittel wird an die Oberfläche der Nanopartikel adsorbiert und verändert sie dergestalt, daß die Dispergierbarkeit des Calciumsalzes zunimmt und die Agglomeration der Nanopartikel verhindert wird.

Darüber hinaus kann durch eine Oberflächenmodifikation die Struktur der Kompositmaterialien sowie die Beladung der Proteinkomponente mit dem nanopartikulären Calciumsalz beeinflußt werden. Auf diese Weise ist es bei der Anwendung der Kompositmaterialien in Remineralisationsprozessen möglich, Einfluß auf den Verlauf und die Geschwindigkeit des Remineralisationsprozesses zu nehmen.

Unter Oberflächenmodifikationsmitteln sind Stoffe zu verstehen, welche an der Oberfläche der feinteiligen Partikel physikalisch anhaften, mit diesen jedoch nicht chemisch reagieren. Die einzelnen an der Oberfläche adsorbierten Moleküle der Oberflächenmodifikationsmittel sind im wesentlichen frei von intermolekularen Bindungen untereinander. Unter Oberflächenmodifikationsmitteln sind insbesondere Dispergiermittel zu verstehen. Dispergiermittel sind dem Fachmann beispielsweise auch unter den Begriffen Emulgatoren, Schutzkolloide, Netzmittel, Detergentien etc. bekannt.

Als Oberflächenmodifikationsmittel kommen beispielsweise Emulgatoren vom Typ der nichtionogenen Tenside aus mindestens einer der folgenden Gruppen in Frage:

- Anlagerungsprodukte von 2 bis 30 Mol Ethylenoxid und/ oder 0 bis 5 Mol Propylenoxid an lineare Fetalkohole mit 8 bis 22 C-Atomen, an Fettsäuren mit 12 bis 22 C-Atomen und an Alkylphenole mit 8 bis 15 C-Atomen in der Alkylgruppe;

- 11 -

- $C_{12/18}$ -Fettsäuremono- und -diester von Anlagerungsprodukten von 1 bis 30 Mol Ethylenoxid an Glycerin;
- Glycerinmono- und -diester und Sorbitanmono- und -diester von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren mit 6 bis 22 Kohlenstoffatomen und deren Ethylenoxidanlagerungsprodukte;
- Alkylmono- und -oligoglycoside mit 8 bis 22 Kohlenstoffatomen im Alkylrest und deren ethoxylierte Analoga;
- Anlagerungsprodukte von 15 bis 60 Mol Ethylenoxid an Ricinusöl und/oder gehärtetes Ricinusöl;
- Polyol- und insbesondere Polyglycerinester, wie z. B. Polyglycerinpolyricinoleat, Polyglycerinpoly-12-hydroxystearat oder Polyglycerindimerat. Ebenfalls geeignet sind Gemische von Verbindungen aus mehreren dieser Substanzklassen;
- Anlagerungsprodukte von 2 bis 15 Mol Ethylenoxid an Ricinusöl und/oder gehärtetes Ricinusöl;
- Partialester auf Basis linearer, verzweigter, ungesättigter bzw. gesättigter  $C_{6/22}$ -Fettsäuren, Ricinolsäure sowie 12-Hydroxystearinsäure und Glycerin, Polyglycerin, Pentaerythrit, Dipenta-erythrit, Zuckeralkohole (z. B. Sorbit), Alkylglucoside (z. B. Methylglucosid, Butylglucosid, Lauryl-glucosid) sowie Polyglucoside (z. B. Cellulose);
- Mono-, Di- und Trialkylphosphate sowie Mono-, Di- und/oder Tri-PEG-alkylphosphate und deren Salze;
- Wollwachsalkohole;
- Polysiloxan-Polyalkyl-Polyether-Copolymere bzw. entsprechende Derivate;
- Mischester aus Pentaerythrit, Fettsäuren, Citronensäure und Fettalkohol gemäß DE-PS 1165574 und/oder Mischester von Fettsäuren mit 6 bis 22 Kohlenstoffatomen, Methylglucose und Polyolen, vorzugsweise Glycerin oder Polyglycerin sowie

- 12 -

- Polyalkylenglycole.

Die Anlagerungsprodukte von Ethylenoxid und/oder von Propylenoxid an Fettalkohole, Fettsäuren, Alkylphenole, Glycerinmono- und -diester sowie Sorbitanmono- und -diester von Fettsäuren oder an Ricinusöl stellen bekannte, im Handel erhältliche Produkte dar. Es handelt sich dabei um Homologen-gemische, deren mittlerer Alkoxylierungsgrad dem Verhältnis der Stoffmengen von Ethylenoxid und/ oder Propylenoxid und Substrat, mit denen die Anlagerungsreaktion durchgeführt wird, entspricht.

C<sub>8/18</sub>-Alkylmono- und -oligoglycoside, ihre Herstellung und ihre Verwendung sind aus dem Stand der Technik bekannt. Ihre Herstellung erfolgt insbesondere durch Umsetzung von Glucose oder Oligosacchariden mit primären Alkoholen mit 8 bis 18 C-Atomen. Bezuglich des Glycosidrestes gilt, daß sowohl Monoglycoside, bei denen ein cyclischer Zuckerrest glycosidisch an den Fettalkohol gebunden ist, als auch oligomere Glycoside mit einem Oligomerisationsgrad bis vorzugsweise etwa 8 geeignet sind. Der Oligomerisationsgrad ist dabei ein statistischer Mittelwert, dem eine für solche technischen Produkte übliche Homogenverteilung zugrunde liegt.

Typische Beispiele für anionische Emulgatoren sind Seifen, Alkylbenzolsulfonate, Alkansulfonate, Olefinsulfonate, Alkylethersulfonate, Glycerinethersulfonate,  $\alpha$ -Methylestersulfonate, Sulfofettsäuren, Alkylsulfate, Alkylethersulfate wie beispielsweise Fettalkoholethersulfate, Glycerinethersulfate, Hydroxymischethersulfate, Monoglycerid(ether)sulfate, Fettsäureamid(ether)sulfate, Mono- und Dialkyl-sulfosuccinate, Mono- und Dialkylsulfo-succinamate, Sulfotriglyceride, Amidseifen, Ethercarbonsäuren und deren Salze, Fettsäureisethionate, Fettsäuresarcosinate, Fettsäuretauride, N-Acylaminosäuren wie beispielsweise Acylglutamate und Acylaspartate, Alkyloligoglucosidsulfate, Proteinfettsäurekondensate (insbesondere pflanzliche Produkte auf Weizenbasis), und Alkyl(ether)phosphate. Sofern die anionischen Tenside Polyglycoletherketten ent-

- 13 -

halten, können diese eine konventionelle, vorzugsweise jedoch eine eingeengte Homologenverteilung aufweisen.

Weiterhin können als Emulgatoren zwitterionische Tenside verwendet werden. Als zwitterionische Tenside werden solche oberflächenaktiven Verbindungen bezeichnet, die im Molekül mindestens eine quartäre Ammoniumgruppe und mindestens eine Carboxylat- und eine Sulfonatgruppe tragen. Besonders geeignete zwitterionische Tenside sind die sogenannten Betaine wie die N-Alkyl-N,N-dimethylammoniumglycinate, beispielsweise das Kokosalkyldimethylammonium-glycinat, N-Acylamino-propyl-N,N-dimethylammonium-glycinate, beispielsweise das Kokosacylaminopropyldimethylammonium-glycinat, und 2-Alkyl-3-carboxymethyl-3-hydroxyethylimidazoline mit jeweils 8 bis 18 C-Atomen in der Alkyl- oder Acylgruppe sowie das Kokosacylaminooethylhydroxyethylcarboxymethylglycinat. Besonders bevorzugt ist das unter der CTFA-Bezeichnung Cocamidopropyl Betaine bekannte Fettsäureamid-Derivat. Ebenfalls geeignete Emulgatoren sind ampholytische Tenside. Unter ampholytischen Tensiden werden solche oberflächenaktiven Verbindungen verstanden, die außer einer C<sub>8/18</sub>-Alkyl- oder -Acylgruppe im Molekül mindestens eine freie Aminogruppe und mindestens eine -COOH- oder -SO<sub>3</sub>H-Gruppe enthalten und zur Ausbildung innerer Salze befähigt sind. Beispiele für geeignete amphi-lytische Tenside sind N-Alkylglycine, N-Alkylpropionsäuren, N-Alkylaminobuttersäuren, N-Alkyliminodipropionsäuren, N-Hydroxyethyl-N-alkylamidopropylglycine, N-Alkytaurine, N-Alkylsarcosine, 2-Alkylaminopropionsäuren und Alkylaminoessigsäuren mit jeweils etwa 8 bis 18 C-Atomen in der Alkyl-gruppe. Besonders bevorzugte ampholytische Tenside sind das N-Kokosalkylaminopropionat, das Kokosacylaminooethylaminopropionat und das C<sub>12/18</sub>-Acylsarcosin. Neben den ampholytischen kommen auch quartäre Emulgatoren in Betracht, wobei solche vom Typ der Esterquats, vorzugsweise methyl-quaternierte Difettsäuretriethanolaminester-Salze, besonders bevorzugt sind.

- 14 -

Als Oberflächenmodifikationsmittel geeignete Schutzkolloide sind z. B. natürliche wasserlösliche Polymere wie z. B. Gummi arabicum, Stärke, wasserlösliche Derivate von wasserunlöslichen polymeren Naturstoffen wie z. B. Celluloseether wie Methylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Carboxymethylcellulose oder modifizierte Carboxymethylcellulose, Hydroxyethyl-Stärke oder Hydroxypropyl-Guar, sowie synthetische wasserlösliche Polymere, wie z. B. Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Polyalkylenglycole, Polyasparaginsäure und Polyacrylate.

In der Regel werden die Oberflächenmodifikationsmittel in einer Konzentration von 0,1 bis 50, vorzugsweise jedoch 1 bis 20 Gew.-%, bezogen auf die Calciumsalze, eingesetzt.

Als Oberflächenmodifikationsmittel bevorzugt geeignet sind vor allem die nichtionischen Tenside in einer Menge von 1 bis 20 Gew.-%, bezogen auf das Gewicht des Calciumsalzes. Als besonders wirksam haben sich die nichtionischen Tenside vom Typ der Alkyl-C8-C16-(oligo)-glucoside und der Ethoxylate des gehärteten Rizinusöls erwiesen. Die erfindungsgemäßen Kompositmaterialien werden durch Fällungsreaktionen aus wässrigen Lösungen wasserlöslicher Calciumsalze und wässrigen Lösungen wasserlöslicher Phosphat- und / oder Fluoridsalze hergestellt werden, wobei die Fällung in Gegenwart von Proteinkomponenten durchgeführt wird. Dies erfolgt vorzugsweise in der Weise, daß die Proteinkomponenten in reiner, gelöster oder kolloidaler Form der alkalischen wäßrigen Phosphat- und / oder Fluorid-Salzlösung oder der alkalischen Lösung des Calciumsalzes vor der Fällungsreaktion beigefügt werden. Alternativ können die Proteinkomponenten in reiner, gelöster oder kolloidaler Form vorgelegt und anschließend nacheinander in beliebiger Reihenfolge oder gleichzeitig mit der alkalischen Calcium-Salzlösung sowie der alkalischen Phosphat- und / oder Fluorid-Salzlösung versetzt werden.

- 15 -

Bei den erfindungsgemäßen Herstellverfahren kann die Zusammenfügung der einzelnen Komponenten grundsätzlich in allen möglichen Reihenfolgen erfolgen. Als Alkalisierungsmittel wird bevorzugt Ammoniak verwendet.

Eine weitere erfindungsgemäße Variante des Herstellverfahrens besteht darin, daß man die Fällung aus einer sauren Lösung eines wasserlöslichen Calciumsalzes zusammen mit einer stöchiometrischen Menge eines wasserlöslichen Phosphat- und / oder Fluoridsalzes oder aus einer sauren Lösung von Hydroxylapatit mit einem pH-Wert unterhalb von 5, bevorzugt bei einem pH-Wert unterhalb von 3, durch Anheben des pH-Werts mit wäßrigem Alkali oder Ammoniak in Gegenwart der Proteinkomponenten durchführt.

Eine weitere Verfahrensvariante besteht darin, daß man nanopartikuläre Calciumsalze in reiner oder dispergierter Form oder durch Fällungsreaktionen aus wässrigen Lösungen wasserlöslicher Calciumsalze und wässrigen Lösungen wasserlöslicher Phosphat- und / oder Fluoridsalze hergestellte Dispersionen nanopartikulärer Calciumsalze mit den Proteinkomponenten, letztere bevorzugt in gelöster oder dispergierter Form, versetzt, wobei bei der Zugabe eine beliebige Reihenfolge gewählt werden kann.

Bevorzugt wird die Lösung oder Dispersion der Proteinkomponente vorgelegt und eine Dispersion des nanopartikulären Calciumsalzes zugefügt.

Bei allen Verfahren, im Verlauf derer eine Fällung von Apatit stattfindet, empfiehlt es sich, den pH-Wert unterhalb von 5, vorzugsweise unterhalb von 3 zu halten. Bei allen genannten Herstellverfahren kann die entstehende Dispersion des Kompositmaterials nach Bedarf durch dem Fachmann bekannte Verfahren wie z. B. Filtration oder Zentrifugation vom Lösungsmittel und den übrigen Bestandteilen des Reaktionsgemisches abgetrennt und durch anschließende Trocknung, z. B. durch Gefriertrocknung, in lösungsmittelfreier Form isoliert werden.

- 16 -

Als Lösungsmittel wird bei allen Herstellungsprozessen bevorzugt Wasser verwendet, jedoch können in einzelnen Schritten der Herstellung auch organische Lösungsmittel wie z. B. Alkohole mit 1 bis 4 C-Atomen oder Glycerin verwendet werden.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Kompositmaterialien, in welchen die Primärpartikel der Calciumsalze oberflächenmodifiziert sind, kann nach analogen Fällungsverfahren wie vorstehend beschrieben erfolgen, wobei jedoch die Fällung der nanopartikulären Calciumsalze oder der Kompositmaterialien in Gegenwart eines oder mehrerer Oberflächenmodifikationsmittel erfolgt.

Bevorzugt wird zunächst durch eine Fällungsreaktion zwischen wäßrigen Lösungen von Calciumsalzen und wäßrigen Lösungen von Phosphat- und / oder Fluoridsalzen in Gegenwart der Oberflächenmodifikationsmittel die oberflächenmodifizierten nanopartikulären Calciumsalze erzeugt. Diese können anschließend von Begleitprodukten des Reaktionsgemisches gereinigt werden, z. B. durch Einengen unter reduziertem Druck und anschließende Dialyse. Durch Abziehen des Lösungsmittels kann zusätzlich eine Dispersion des oberflächenmodifizierten Calciumsalzes mit einem Feststoffanteil nach Wunsch hergestellt werden. Anschließend wird durch Zugabe der Proteinkomponenten in reiner, gelöster oder kolloidaler Form, wobei wiederum die Reihenfolge der Zugabe unkritisch ist, und erforderlichenfalls Nachreaktion bei erhöhter Temperatur, bevorzugt im Bereich zwischen 50 und 100 °C und für eine Dauer von 1 bis 100 Minuten, das Kompositmaterial aus oberflächenbeschichtetem Calciumsalz und Proteinkomponenten gebildet.

Zur Herstellung von Dispersionen oberflächenmodifizierter Calciumsalze können weitere Verfahren herangezogen werden, wie die in der deutschen Anmeldung DE 19858662.0 beschriebenen.

- 17 -

Die erfindungsgemäßen Kompositmaterialien, insbesondere die von Hydroxylapatit, Fluorapatit und Calciumfluorid, eignen sich als remineralisierende Komponente zur Herstellung von Zusammensetzungen zur Reinigung und/oder Pflege der Zähne. Durch die strukturierte Form der Composite und die Partikelgröße der darin enthaltenen Calciumverbindungen kann die Wirkung einer Festigung des Zahnschmelzes und des Verschlusses von Läsionen und Dentinkanälchen besonders rasch und vollständig erfolgen. Die Zusammensetzungen zur Reinigung und Pflege der Zähne können dabei beispielsweise in Form von Pasten, flüssigen Cremes, Gelen oder Mundspülungen vorliegen. Selbst in flüssigen Zubereitungen verteilen sich die erfindungsgemäßen Kompositmaterialien leicht, bleiben stabil dispergiert und neigen nicht zur Sedimentation.

Eine bevorzugte Ausführungsform sind Zahnpasten mit einem Gehalt an Kieselsäure, Poliermitteln, Feuchthaltemitteln, Bindemitteln und Aromen, die 0,1 – 10 Gew.-% erfindungsgemäße Kompositmaterialien mit nanopartikulären Calciumsalzen aus der Gruppe Hydroxylapatit, Fluorapatit und Calciumfluorid enthalten.

Die Zubereitungen zur Reinigung und Pflege der Zähne können dabei die üblichen Komponenten und Hilfsmittel solcher Zusammensetzungen in den dafür üblichen Mengen enthalten. Für Zahnpasten sind dies z. B.

- Putz- und Polierkörper wie z. B. Kreide, Kieselsäuren, Aluminiumhydroxid, Aluminiumsilikate, Calciumpyrophosphat, Dicalciumphosphat, unlösliches Natriummetaphosphat oder Kunstharzpulver
- Feuchthaltemittel wie z. B. Glycerin, 1,2-Propylenglycol, Sorbit, Xylit und Polyethylenglycole
- Bindemittel und Konsistenzregler, z. B. natürliche und synthetische wasserlöslich Polymer und wasserlösliche Derivate von Naturstoffen, z. B.

- 18 -

Celluloseether, Schichtsilikate, feinteilige Kieselsäuren (Aerogel-Kieselsäuren, pyogene Kieselsäuren)

- Aromen, z. B. Pfefferminzöl, Krauseminzöl, Eukalyptusöl, Anisöl, Fenchelöl, Kümmelöl, Menthylacetat, Zimtaldehyd, Anethol, Vanillin, Thymol sowie Mischungen dieser und anderer natürlicher und synthetischer Aromen
- Süßstoffe wie z. B. Saccharin-Natrium, Natriumcyclamat, Aspartame, Acesulfan K, Steviosid, Monellin, Glycyrrheticin, Dulcin, Lactose, Maltose oder Fructose
- Konservierungsmittel und antimikrobielle Stoffe wie z. B. p-Hydroxybenzoesäureester, Natriumsorbat, Triclosan, Hexachlorophen, Phenylsalicylsäureester, Thymol usw.
- Pigmente wie z. B. Titandioxid oder Pigmentfarbstoffe zur Erzeugung farbiger Streifen
- Puffersubstanzen z. B. primäre, sekundäre oder tertiäre Alkaliphosphate, Citronensäure / Na-Citrat
- wundheilende und entzündungshemmende Wirkstoffe, z. B. Allantoin, Harnstoff, Azulen, Panthenol, Acetylsalicylsäure-Derivate, Pflanzenextrakte, Vitamine, z. B. Retinol oder Tocopherol.

Die erfindungsgemäßen Kompositmaterialien, insbesondere die von Hydroxylapatit und Fluorapatit, können die Biomineralisation in Knochengewebe induzieren oder fördern. Sie eignen sich daher weiterhin als biomineralisierende Komponente zur Herstellung von Zusammensetzungen zur Wiederherstellung oder Neubildung von Knochenmaterial, wie z. B. von Zusammensetzungen zur Behandlung von Knochendefekten und Knochenfaktoren sowie zur Förderung des Einwachsens von Implantaten.

- 19 -

Zur Beschichtung von Implantaten können die erfindungsgemäßen Kompositmaterialien beispielsweise nach den dem Fachmann bekannten Standardverfahren der Tauchbeschichtung oder des Plasmaspritzens aufgebracht werden.

Zur Verwendung als injizierbare Knochenersatzmaterialien können die erfindungsgemäßen Kompositmaterialien mit geeigneten weiteren Stoffen kombiniert werden, wie z. B. Glycosaminoglycanen oder Proteinen, und mit geeigneten Lösungs- und Hilfsmitteln wie z. B. einem verdünnten wäßrigen Phosphatpuffer formuliert werden.

Die folgenden Beispiele sollen den Erfindungsgegenstand näher erläutern:

- 20 -

### Beispi I

#### 1. Herstellung von Proteinlösungen bzw. -dispersionen

##### 1.1 Gelatine Typ A :

10 g Gelatine Typ A (Gelatine gewonnen durch saure Hydrolyse von Schweinhaut) wurden mit 100 ml Wasser versetzt und mittels Mikrowelle einmal aufgekocht.

##### 1.2 Gelatine Typ A und Casein:

10 g Gelatine Typ A wurden mit 100 ml Wasser sowie 10 ml des Überstands einer bei 20°C gesättigten und anschließend mit 5000 rpm zentrifugierten Caseinlösung versetzt und anschließend mittels Mikrowelle einmal aufgekocht.

##### 1.3 Hydrolysat von Gelatine Typ A:

10 g Gelatine Typ A wurden mit 100 ml Wasser sowie der alkalischen Protease Savinase (Hersteller: Novo Nordisk) in einer Einsatzkonzentration von 0,005 % Enzym-Trockensubstanz, bezogen auf die Trockensubstanz der Gelantine versetzt. Nach 20 h Rühren bei 20 °C wurde mittels Mikrowelle einmal aufgekocht.

##### 1.4 Hydrolysat von Gelatine Typ A und Casein:

10 g Gelatine Typ A und 1 g Casein wurden mit 100 ml H<sub>2</sub>O versetzt, über Nacht bei Raumtemperatur mit alkalischer Protease Savinase (Hersteller: Novo Nordisk) in einer Einsatzkonzentration von 0,005 % Enzym-Trockensubstanz, bezogen auf die Trockensubstanz der Proteinkomponenten hydrolysiert, dann einmal in der Mikrowelle aufgekocht und anschließend filtriert.

- 21 -

1.5      Gelatine Typ B :

10 g Gelatine Typ B (Gelatine gewonnen durch alkalische Hydrolyse von Rinderhaut) wurden mit 100 ml Wasser versetzt und mittels Mikrowelle einmal aufgekocht.

1.6      Gelatine Typ B und Casein:

10 g Gelatine Typ B wurden mit 100 ml Wasser sowie 10 ml des Überstands einer bei 20°C gesättigten und anschließend mit 5000 rpm zentrifugierten Caseinlösung versetzt und anschließend mittels Mikrowelle einmal aufgekocht.

1.7      Hydrolysat von Gelatine Typ B:

10 g Gelatine Typ B wurden mit 100 ml Wasser sowie der alkalischen Protease Savinase (Hersteller: Novo Nordisk) in einer Einsatzkonzentration von 0,005 % Enzym-Trockensubstanz bezogen auf die Trockensubstanz der Gelatine versetzt. Nach 20 h Rühren bei 20 °C wurde mittels Mikrowelle einmal aufgekocht.

1.8      Hydrolysat von Gelatine Typ B und Casein:

10 g Gelatine Typ B und 1 g Casein wurden mit 100 ml H<sub>2</sub>O versetzt, über Nacht bei Raumtemperatur mit alkalischer Protease Savinase (Hersteller: Novo Nordisk) in einer Einsatzkonzentration von 0,005 % Enzym-Trockensubstanz bezogen auf die Trockensubstanz der Proteinkomponenten hydrolysiert, dann einmal in der Mikrowelle aufgekocht und anschließend filtriert.

**2. Herstellung von Kompositmaterialien durch Fällungsreaktionen in Gegenwart der Proteinkomponenten**

2.1      Kompositmaterial aus Hydroxylapatit und Gelatine Typ A:

- 22 -

2,21 g Calciumchlorid wurden in 137 ml vollentsalztes Wasser gelöst, auf 25 °C temperiert und mit 25 Gew.-%iger wäßriger Ammoniaklösung auf pH = 11 eingestellt. Unter starkem Rühren wurden anschließend 20 ml der im Wasserbad auf 30-40 °C erwärmten nach Beispiel 1.1 hergestellten Proteinlösung zugefügt. Im Anschluß wurde eine wäßrige Lösung von 1,58 g Diammoniumhydrogenphosphat in 26 ml vollentsalztes Wasser, welche auf 25 °C temperiert und mit Ammoniaklösung auf pH = 11 eingestellt worden war, langsam innerhalb von 1 h zugetropft. Dabei findet die Ausfällung des Kompositmaterials statt. Der pH-Wert lag zu Beginn der Zutropfzeit bei 10,4 und wurde durch Nachdosierung von Ammoniaklösung bei einem pH-Wert von ca. 10 gehalten. Nach 20 h Reaktionszeit (25°C, unter Rühren) war der pH-Wert der wäßrigen Suspension auf 9,5 abgefallen. Das ausgefallene Kompositmaterial wurde bei 5000 rpm abzentrifugiert mit ca. 30 - 40°C warmem vollentsalztem Wasser gewaschen und gefriergetrocknet. Man erhielt 2,2 g Kompositmaterial, dessen Elementaranalyse einen Kohlenstoffgehalt von 2,3 % ergab; dies entspricht einem Gehalt an Proteinmaterial von 5,6 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtmenge des Kompositmaterials.

**2.2– 2.8 Kompositmaterialien aus Hydroxylapatit und weiteren Proteinkomponenten:**

In analoger Weise wie unter Beispiel 2.1 beschrieben erhielt man Kompositmaterialien aus Hydroxylapatit sowie den unter 1.2 bis 1.8 beschriebenen Proteinkomponenten.

**3. Herstellung von Kompositmaterialien durch Einarbeitung von Disp rsi n n oberflächenmodifizierter Calciumsalze in Protein-komponenten**

- 23 -

3.1 Kompositmaterial aus Hydroxylapatit und Gelatine Bloom 300:

Zunächst wurden getrennt die Lösungen A und B hergestellt.

Lösung A:

25.4 g Calciumnitrat-Tetrahydrat und 8.50 g Diammoniumhydrogenphosphat wurden jeweils in 100 g entionisiertem Wasser gelöst. Beide Lösungen wurden unter Ausbildung eines weißen Niederschlags zusammengegeben. Nach Zugabe von 10 ml 37 Gew.-%iger HCl erhielt man eine klare Lösung.

Lösung B:

200 ml entionisiertes Wasser, 200 ml 25 Gew.-%ige wäßrige Ammoniaklösung sowie 20 g Plantacare® 1200 wurden zusammengegeben und auf 0°C im Eisbad abgekühlt. Unter Ausbildung eines Hydroxylapatit-Niederschlages gab man unter starkem Rühren Lösung A zu Lösung B. Nach Abziehen überschüssigen Ammoniaks wurde die Dispersion mittels Dialyse gereinigt. Am Rotationsverdampfer engte man die Dispersion durch Bestimmung der abgeschiedenen Wassermenge anschließend soweit ein, daß der Feststoffanteil in der Dispersion, berechnet als Hydroxylapatit, 7.5 Gew.-% betrug.

Diese Dispersion wurde bei Raumtemperatur zu 100 ml g einer analog Beispiel 1.1 hergestellten 10 Gew.-%igen wässrigen Lösung von Gelatine Bloom 300 (Hersteller: Fluka) zugegeben, dann auf 80°C erwärmt und bei dieser Temperatur 5 Minuten gerührt. Anschließend ließ man die Masse unter Ausbildung des Kompositmaterials bei Raumtemperatur ersticken.

4. Zahncr mes mit Calciumsalz-K mpositmaterialien

- 24 -

Rezeptur-Beispiele	4.1	4.2
Sident® 8	10,0 Gew.-%	10,0 Gew.-%
Sident® 22S	7,0 Gew.-%	7,0 Gew.-%
Sipernat® 320DS	0,8 Gew.-%	0,8 Gew.-%
Kompositmaterial gemäß Beispiel 2.1	5,0 Gew.-%	-
Kompositmaterial gemäß Beispiel 3.1	-	5,0 Gew.-%
Polywachs® 1550	2,0 Gew.-%	2,0 Gew.-%
Texapon® K 1296	1,5 Gew.-%	1,5 Gew.-%
Titandioxid	1,0 Gew.-%	1,0 Gew.-%
Cekol® 500 T	1,0 Gew.-%	1,0 Gew.-%
Na-Fluorid	0,33 Gew.-%	0,33 Gew.-%
Na-Benzoat	0,25 Gew.-%	0,25 Gew.-%
Aroma	1,0 Gew.-%	1,0 Gew.-%
Tagat® S	0,2 Gew.-%	-
Na-Saccharinat	0,15 Gew.-%	0,15 Gew.-%
Tri-Natriumphosphat	0,10 Gew.-%	0,10 Gew.-%
Sorbit (70 %ig in Wasser)	31,0 Gew.-%	31,0 Gew.-%
Wasser	ad 100 Gew.-%	ad 100 Gew.-%

- 25 -

Es wurden folgende Handelsprodukte verwendet:

Plantacare®1200: C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>-Alkylglycosid  
ca. 50 Gew.-% in Wasser  
Hersteller: HENKEL KgaA

Sident®8: Synth. amorph. Kieselsäure, BET 60 m<sup>2</sup>/g  
Stampfdichte: 350 g/l  
Hersteller: DEGUSSA

Sident®22 S: Hydrogelkieselsäure, BET 140 m<sup>2</sup>/g  
Stampfdichte: 100 g/l  
Hersteller: DEGUSSA

Polywachs® 1550: Polyethylenglycol, MG : 1550  
Erweichungspunkt 45 – 50°C  
Hersteller: RWE / DEA

Texapon®K 1296: Natrium-Laurylsulfat-Pulver  
Hersteller: HENKEL KGaA

Cekol®500 T: Natrium-Carboxymethylcellulose  
Viskosität (2 %ig in Wasser, Brookfield LVF  
20°C) : 350 – 700 mPa·s  
Lieferant: Nordmann-Rassmann

Tagat® S: Polyoxyethylen-(20)-glycerylmonostearat  
Hersteller: Tego Cosmetics (Goldschmidt)

- 26 -

### **Patentsprüche**

1. Kompositmaterialien umfassend
  - a) in Wasser schwerlösliche Calciumsalze, ausgewählt aus Phosphaten, Fluoriden und Fluorophosphaten, die wahlweise zusätzlich Hydroxyl- und/oder Carbonat-Gruppen enthalten können, wobei die Calciumsalze in Form von nanopartikulären Primärteilchen mit einem mittleren Teilchendurchmesser im Bereich von 10 bis 300 nm vorliegen, und
  - b) Proteinkomponenten ausgewählt aus Proteinen, Proteinhydrolysaten und Proteinhydrolysat-Derivaten.
2. Kompositmaterialien gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Calciumsalze in Form von stäbchenförmigen Primärteilchen vorliegen mit einer Dicke im Bereich von 2 bis 50 nm und einer Länge im Bereich von 10 bis 150 nm.
3. Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteinkomponenten ausgewählt sind aus strukturbildenden Proteinen, Proteinhydrolysaten und Proteinhydrolysat-Derivaten.
4. Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteinkomponenten ausgewählt sind aus Kollagen, Gelatine, Keratin, Casein, Weizenprotein, Reisprotein, Sojaprotein, Mandelprotein und deren Hydrolysaten und Hydrolysat-Derivaten.
5. Kompositmaterialien gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteinkomponenten ausgewählt sind aus Gelatine, Casein und deren Hydrolysaten.

- 27 -

6. Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die als nanopartikuläre Primärpartikel vorliegenden Calciumsalze von einem oder mehreren Oberflächenmodifikationsmitteln umhüllt sind.
7. Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Calciumsalz ausgewählt ist aus der Gruppe Hydroxylapatit und Fluorapatit.
8. Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil der Proteinkomponenten im Kompositmaterial zwischen 0,5 und 10 Gew.-% bezogen auf das Gesamtgewicht des Kompositmaterials beträgt.
9. Verfahren zur Herstellung von Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 bis 8 durch Fällungsreaktionen aus wäßrigen Lösungen wasserlöslicher Calciumsalze und wäßrigen Lösungen wasserlöslicher Phosphat- und / oder Fluoridsalze, dadurch gekennzeichnet, daß die Fällung in Gegenwart von Proteinkomponenten durchgeführt wird.
10. Verfahren zur Herstellung von Kompositmaterialien nach Anspruch 9 durch Fällung aus einer sauren Lösung eines wasserlöslichen Calciumsalzes und einer stöchiometrischen Menge eines wasserlöslichen Phosphat- und / oder Fluoridsalzes mit einem pH-Wert unterhalb von 3 durch Anheben des pH-Wertes mit wäßrigen Alkalien oder Ammoniak in Gegenwart von Proteinkomponenten.
11. Verwendung der Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 bis 8 als remineralisierende Komponenten in Zusammensetzungen zur Reinigung und / oder Pflege der Zähne.

- 28 -

12. Verwendung der Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 bis 8 als die Biomineralisation induzierende oder fördernde Komponente in Zusammensetzungen für die Behandlung von Zahn- oder Knochendefekten.
13. Verwendung der Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 bis 8 zur Beschichtung von Implantaten.
14. Zahnpasten mit einem Gehalt an Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 bis 8.
15. Zusammensetzungen zur Induktion oder Förderung der Neubildung von Knochengewebe mit einem Gehalt an Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 bis 8.

1/2

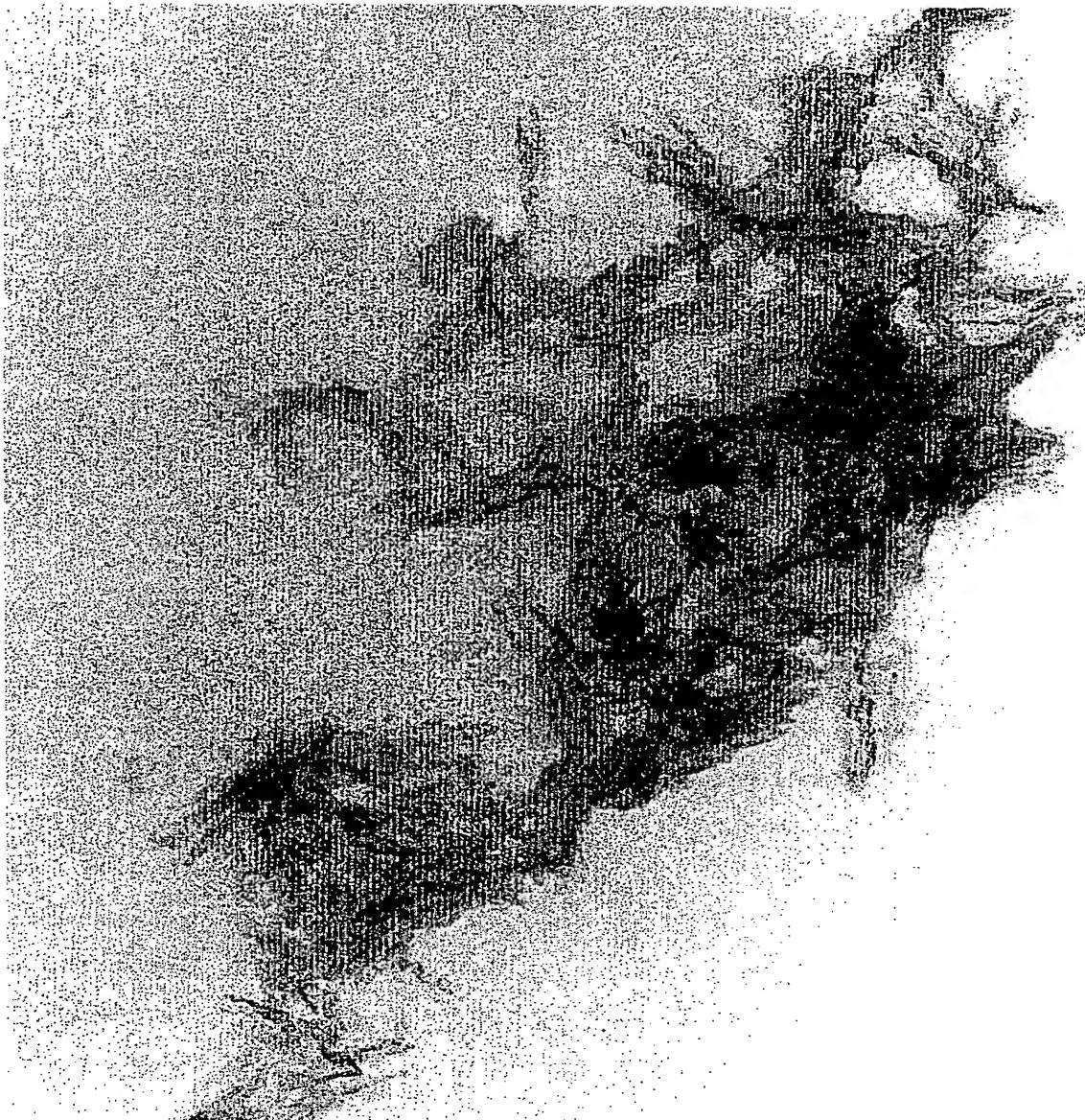
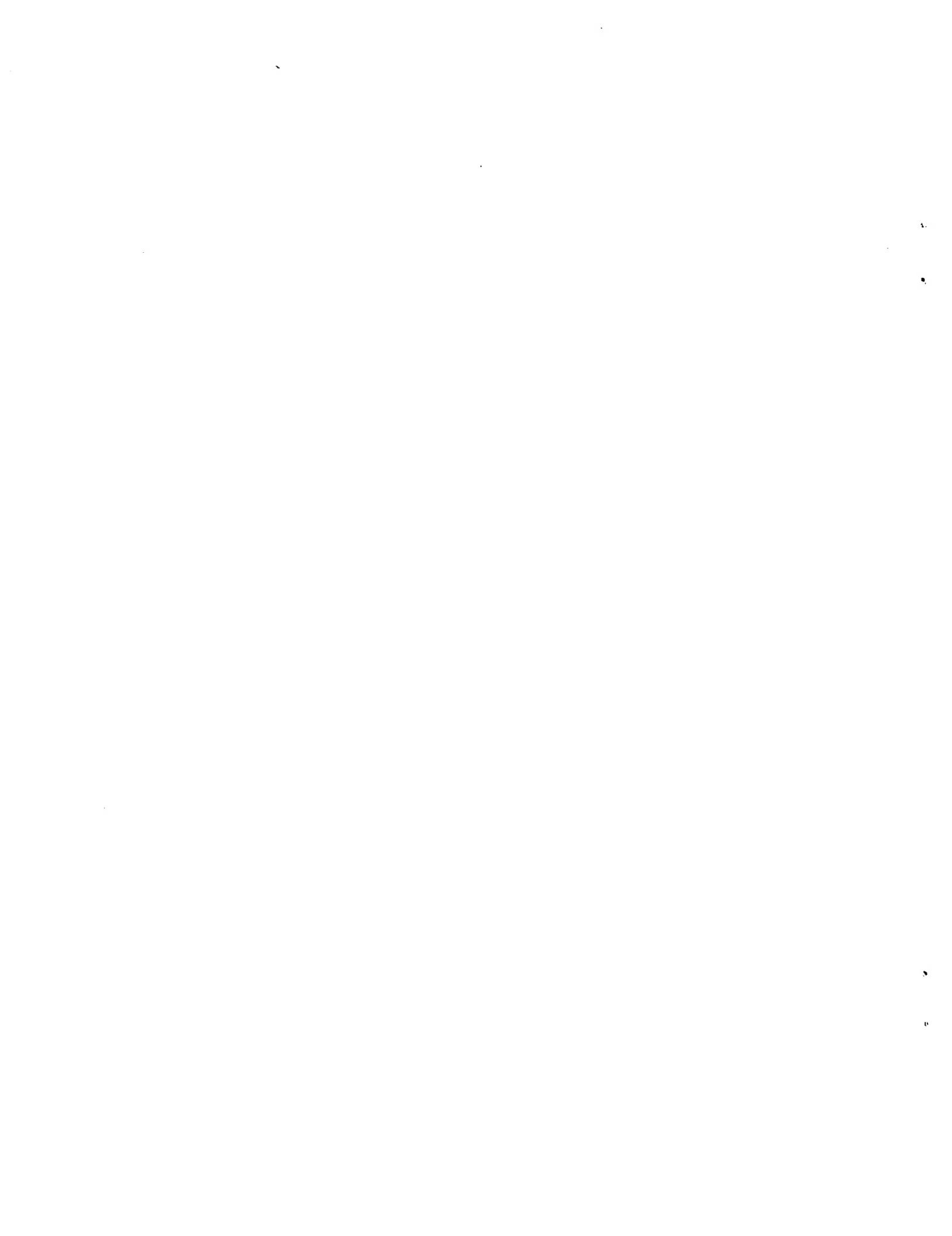


Abbildung 1



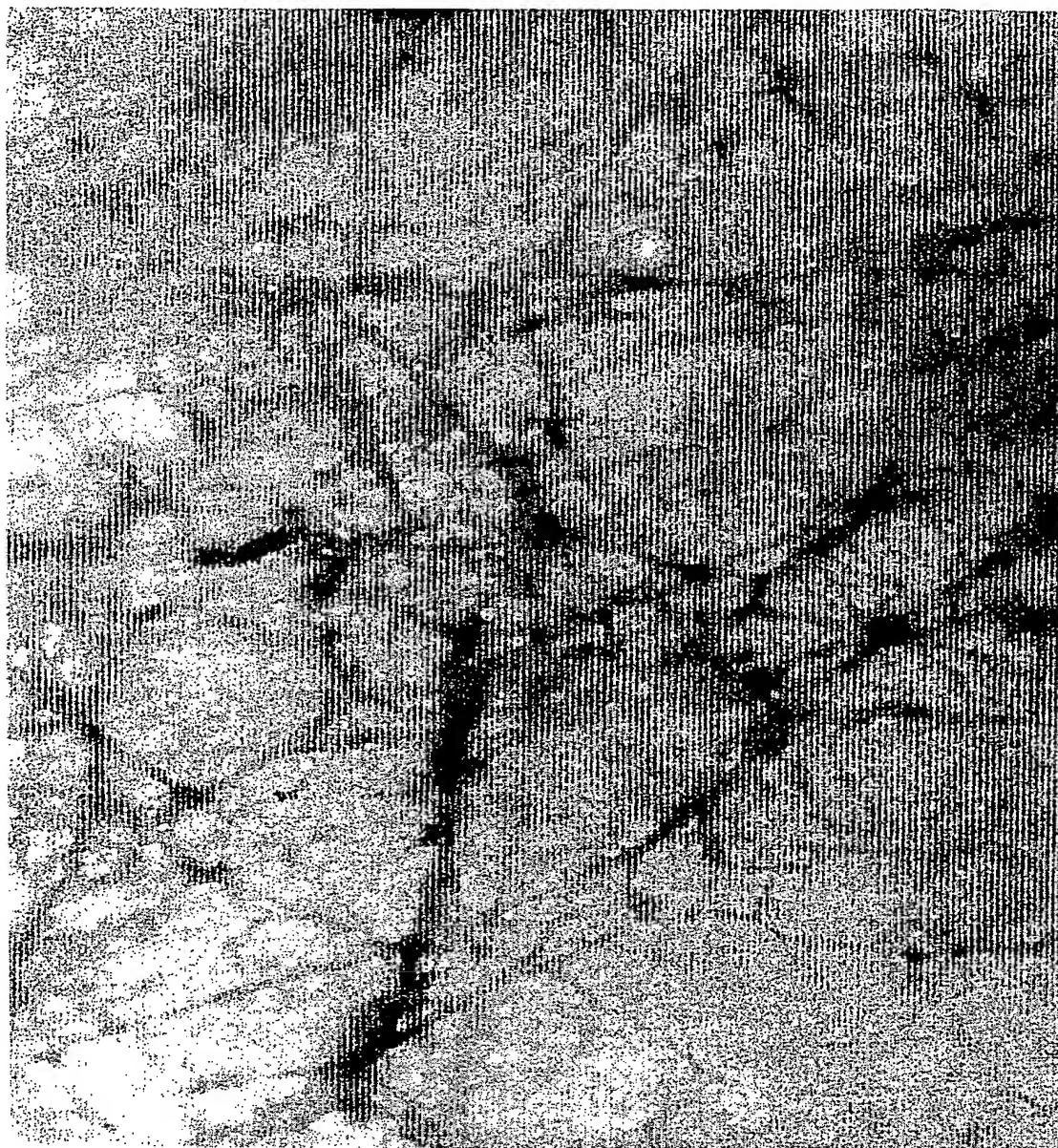
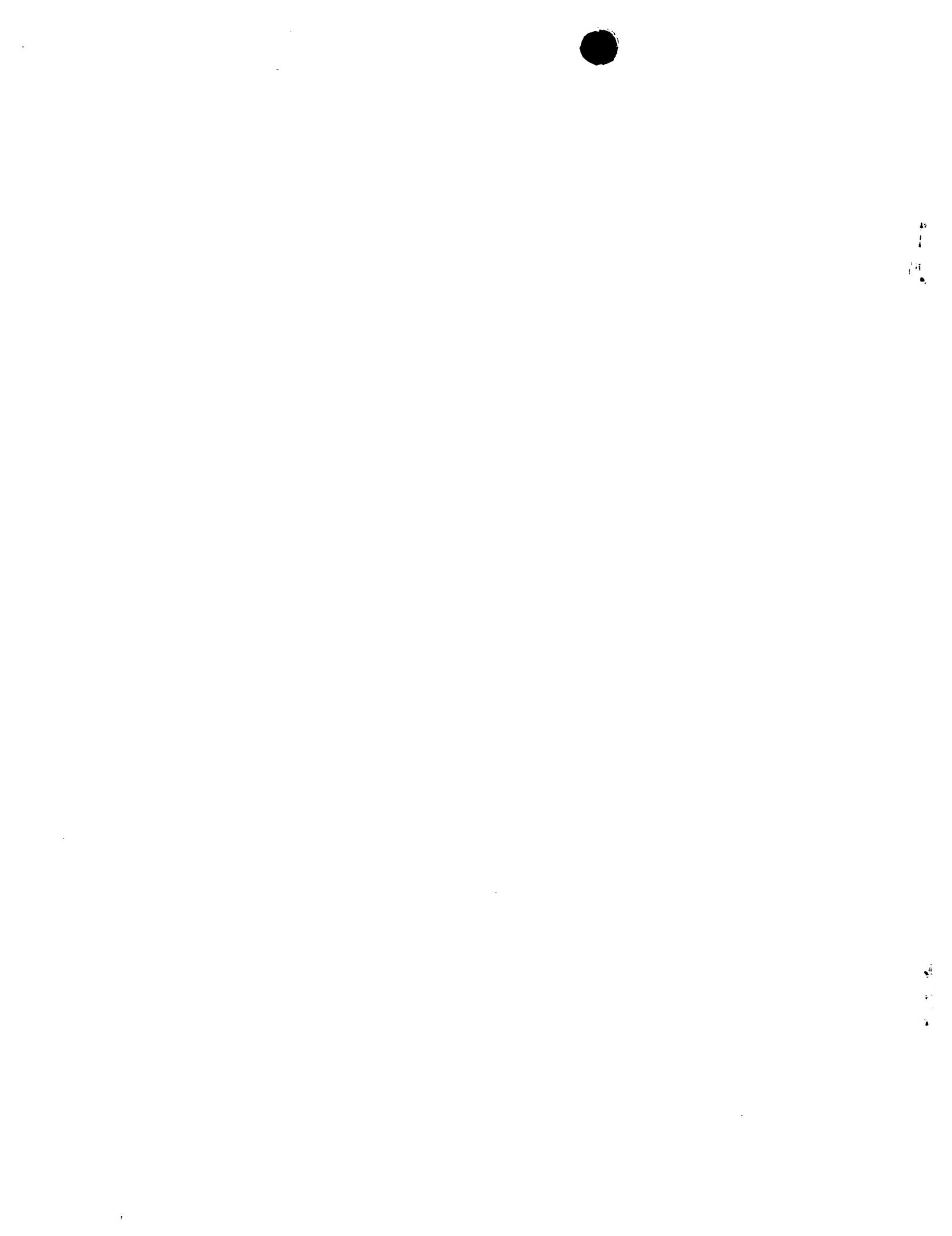


Abbildung 2



(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
11. Januar 2001 (11.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/01930 A3**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: A61K 7/16,  
6/033, A61L 27/00

Lothar [DE/DE]; An der Garather Motte 15, D-40595  
Düsseldorf (DE). PASTURA, Amerigo [DE/DE]; Sauer-  
bruchstrasse 3a, D-58453 Witten (DE). WÜLKKNITZ,  
Peter [DE/DE]; Im Erlengrund 9, D-42799 Leichlin-  
gen (DE). KNIEP, Rüdiger [DE/DE]; Wupperstrasse  
26a, D-40764 Langenfeld (DE). ESCHEN, Burkhard  
[DE/DE]; Döberitzer Strasse 18, D-40599 Düsseldorf  
(DE). MEINDERS, Michael [DE/DE]; Am Eichenhof 11,  
D-47800 Krefeld (DE). LASKA, Hans [DE/DE]; Sper-  
berstrasse 10, D-40627 Düsseldorf (DE). MÜLLNER,  
Stefan [DE/DE]; Hagebuttenweg 21, D-40764 Langenfeld  
(DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/05813

(22) Internationales Anmeldedatum:  
23. Juni 2000 (23.06.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
199 30 335.5 2. Juli 1999 (02.07.1999) DE

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AU, BR, CA, CN, CZ,  
HU, JP, KR, MX, NO, PL, SK, US.

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF  
AKTIEN [DE/DE]; Henkelstrasse 67, D-40589 Düssel-  
dorf (DE).

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT,  
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): KROPF, Christian  
[DE/DE]; Cäcilienstrasse 4, D-40597 Düsseldorf (DE).  
DOLHAINE, Hans [DE/DE]; Bendgasse 20, D-41352  
Glehn (DE). ROTH, Marcel [DE/DE]; Weststrasse 17,  
D-40591 Düsseldorf (DE). BRÜNINGHAUS, Ulrike  
[DE/DE]; An der Dorfstrasse 6, D-40789 Monheim (DE).  
WEISS, Albrecht [DE/DE]; Forellenweg 37, D-40764  
Langenfeld (DE). SCHÖRKEN, Ulrich [DE/DE];  
Neustrasse 12, D-42799 Leichlingen (DE). KINTRUP,

Veröffentlicht:

— Mit internationalem Recherchenbericht.

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen  
Recherchenberichts: 12. Juli 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

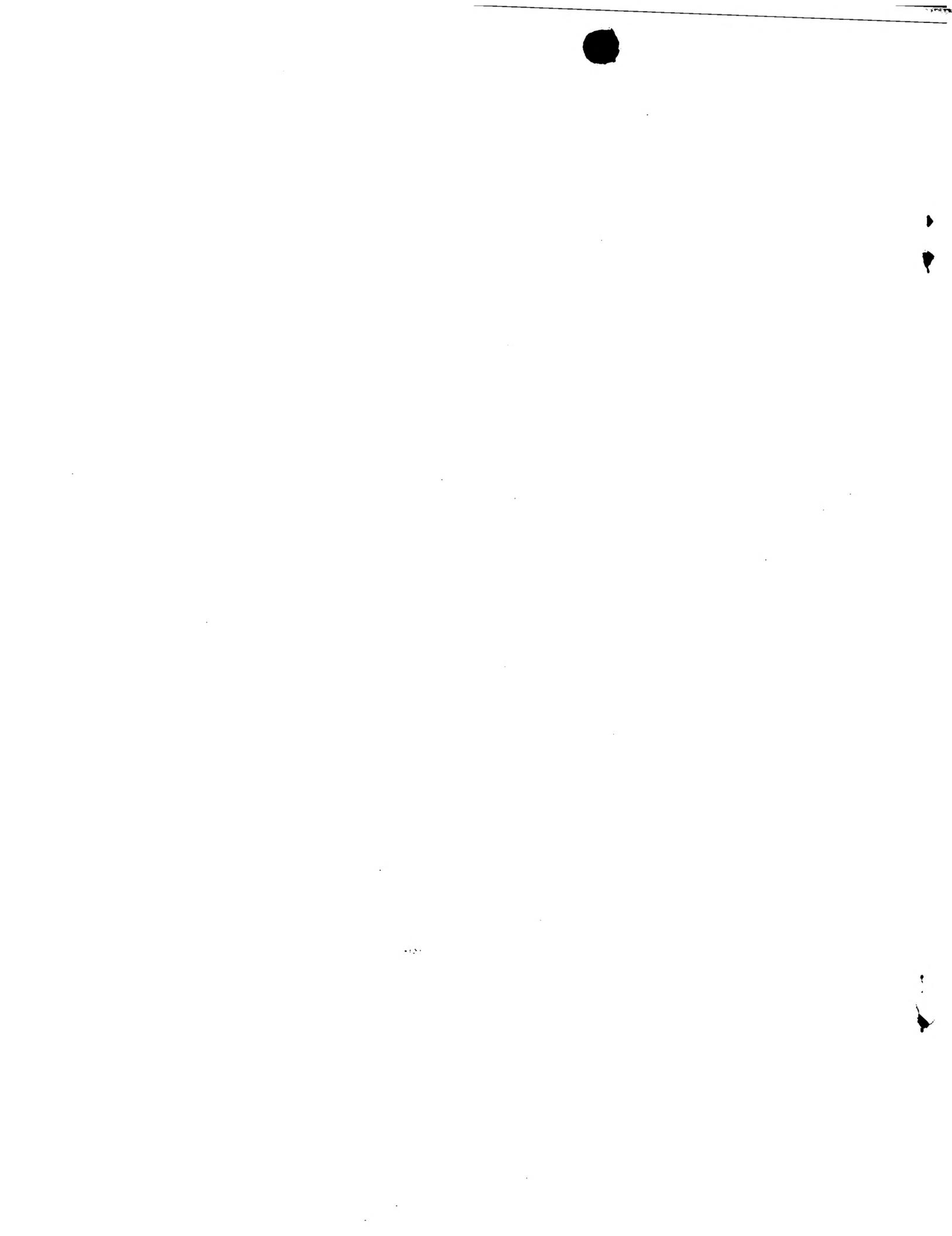
(54) Title: COMPOSITE MATERIALS COMPRISED OF CALCIUM COMPOUNDS AND PROTEIN CONSTITUENTS

(54) Bezeichnung: KOMPOSITMATERIALIEN AUS CALCIUMVERBINDUNGEN UND PROTEINKOMPONENTEN

(57) Abstract: The invention relates to composite materials comprising calcium salts, such as calcium phosphates and calcium fluorophosphates, which are poorly soluble in water, whereby the calcium salts are provided in the form of nanoparticulate particles having an average particle diameter ranging from 10 to 300 nm. The inventive composite materials also comprise protein constituents selected from proteins, protein hydrolyzates, and protein hydrolyzate derivatives. Said composite materials are suited for use as remineralizing constituents in compositions for cleaning and caring for teeth as well as for promoting the regeneration of bone tissue.

(57) Zusammenfassung: Kompositmaterialien umfassend in Wasser schwerlösliche Calciumsalze wie z.B. Calcium-Phosphate und -Fluorophosphate, wobei die Calciumsalze in Form von nanopartikulären Teilchen mit einem mittleren Teilchendurchmesser im Bereich von 10 bis 300 nm vorliegen, und Proteinkomponenten ausgewählt aus Proteinen, Proteinhydrolysaten und Proteinhydrolysat-Derivaten eignen sich als remineralisierende Komponenten in Zusammensetzungen zur Reinigung und Pflege der Zähne sowie zur Förderung der Neubildung von Knochengewebe.

**WO 01/01930 A3**



Replacement page

**CLAIMS**

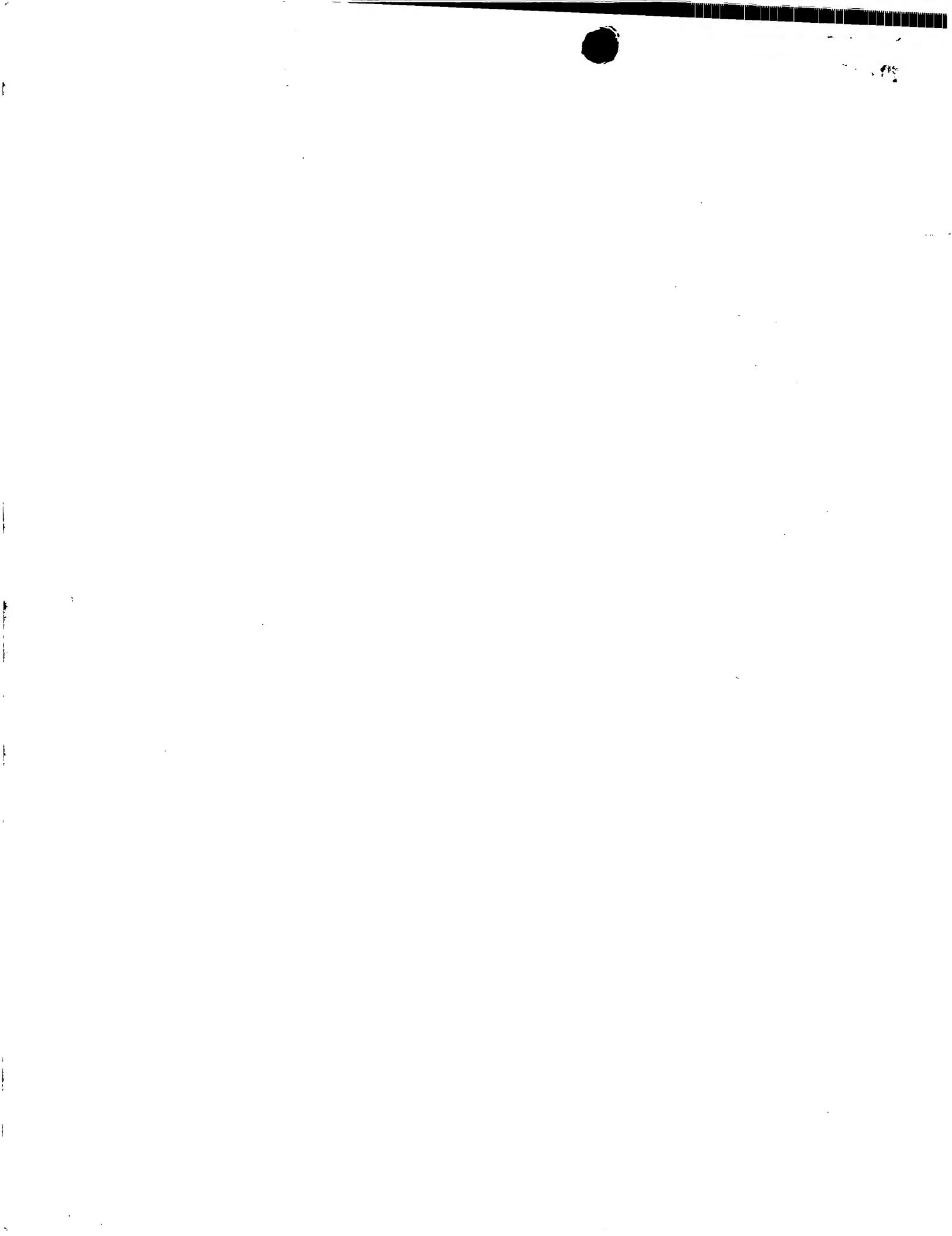
1. Composite materials comprising

5

- a) poorly water-soluble calcium salts selected from phosphates, fluorides and fluorophosphates which - if desired - may additionally contain hydroxyl and/or carbonate groups, the calcium salts being present in the form of nanoscale primary particles with a mean particle diameter of 10 to 300 nm, and
- 10 b) protein components selected from proteins, protein hydrolyzates and protein hydrolyzate derivatives,

characterized in that the calcium salts are present in the form of rodlet-like primary particles.

15  
2. Composite materials as claimed in claim 1, characterized in that the rodlet-like primary particles have a thickness of 2 to 50 nm and a length of 10 to 150 nm.



## A Process for the Production of Rice Protein Hydrolyzates

### Field of the Invention

This invention relates to a process for the production of rice protein hydrolyzates, in which the protein-containing starting materials are treated with a proteinase under alkaline conditions, and to the use of the hydrolyzates for the production of light-colored, storage-stable derivatives.

5

### Prior Art

Degradation products of polypeptides, so-called protein hydrolyzates, have been known for some time. Although they do not have any detergent properties because of the absence of a lipophilic group, they are used in a large number of surface-active formulations by virtue of their dispersing properties and their ability favorably to influence the dermatological compatibility of anionic surfactants by interaction with the protein molecules of the skin. Relevant synoptic articles have been published, for example, by A. Domsch et al. in Ärztl. Kosmetol. 13, 524 (1983), by G. Schuster et al. in Cosmet. Toil., 99, 12 (1984) and by H. Lindner in Parfüm. Kosmet., 66, 85 (1985).

15

Protein hydrolyzates are normally obtained on the basis of animal collagen. In recent years, however, there has been an increasing trend towards vegetable products, for example based on wheat gluten or rice protein and, in particular, soya protein.

20

For example, the hydrolysis of vegetable proteins by special lactic acid bacteria in the presence of hydrocarbons is known from FR-A 25 42 013 (ABC). US 4,757,007 (Nissin) describes the partial hydrolysis of soya proteins with proteases into fractions differing in their solubility in trichloro-



acetic acid, separation of the fractions at a pH value of 7, removal of non-hydrolyzed components and purification of the products by ultrafiltration. European patent application EP-A-0 187 048 (Novo) describes the enzymatic degradation of soya proteins by treatment with special proteases. The 5 production of protein hydrolyzates with an average molecular weight of 500 to 90,000 by step-by-step alkaline, acidic and/or enzymatic degradation of wheat or soya proteins is known from EP-A 0 298 419 (Katayama). Finally, EP-A 0 363 771 (Nestlé) reports on a process for the production of protein 10 hydrolyzates in which vegetable proteins are hydrolyzed with hydrochloric acid, non-hydrolyzed components are removed, the hydrolyzates are alkalized to destroy unwanted chlorinated compounds and the resulting products are subsequently acidified.

However, one feature common to all known processes is that, when applied to the vegetable raw material rice, they give dark-colored products 15 which are not sufficiently stable in storage.

Accordingly, the problem addressed by the present invention was to provide light-colored, storage-stable rice protein hydrolyzates.

#### Description of the Invention

20 The present invention relates to a process for the production of rice protein hydrolyzates in which protein-containing starting materials are hydrolyzed in the presence of proteinases at a pH value in the range from 8 to 10.

After extensive studies, applicants have found that the inadequate 25 stability in storage is attributable to an unfavorable molecular weight distribution of the rice protein hydrolyzates. Accordingly, the solution to the problem in question had to enable a suitable molecular weight distribution to be produced. It was surprisingly found that enzymatic degradation carried out under special pH conditions using specially selected enzymes leads to 30 unexpectedly light-colored non-clouding hydrolyzates.



Proteinases

5 Proteinases belong to the group of proteases, i.e. enzymes, which catalyze the hydrolytic cleavage of the peptide bond and, accordingly, belong systematically to the hydrolases. Proteinases, which are also known as endoproteases or endopeptidases, cleave peptide bonds within the protein.

10 They are different from the (exo)peptidases which promote degradation at the terminal peptide bond of the terminal amino or carboxyl group. Typical examples of proteinases suitable for the purposes of the process according to the invention are the commercially available serine proteinases (EC 3.4.21), cysteine or thiol proteinases (EC 3.4.22), acidic proteinases of the aspartate or carboxyproteinase type (EC 3.4.23) and - subordinately - metal proteinases (3.4.24).

15 Examples of suitable serine proteinases are chymotrypsin, elastase, kallikrein, plasmin, trypsin, thrombin and subtilisin.

20 Basically, the quantity in which the proteinases are used is not critical although the quantities used should be in the range from 0.1 to 5% by weight and preferably in the range from 0.5 to 2% by weight, based on the starting materials.

Adsorbents

25 To remove traces of unwanted color formers, it has proved to be of advantage to introduce the protein-containing starting materials into the hydrolysis process together with suitable adsorbents. Suitable adsorbents are, for example, silica gels, aluminium oxides and - preferably - activated carbons which may be used in quantities of 0.1 to 15% by weight and preferably in quantities of 1 to 5% by weight, based on the nitrogen content of the protein-containing starting materials.

Carrying out the hydrolysis process

30 To carry out the enzymatic hydrolysis, an aqueous suspension of the



protein-containing starting material - optionally together with the adsorbents described above - is degraded for 1 to 24 h under alkaline conditions, preferably at a pH value of 8 to 9, and at the optimum temperature of the proteinases used, for example at 40 to 70°C.

5        Protein-containing starting materials in the context of the present invention are understood to be rice flour and protein isolates which are obtained, for example, by extraction of rice flour using known methods and which may have a protein content of 70 to 90% by weight.

10      In one preferred embodiment of the process according to the invention, the proteinase-catalyzed degradation is preceded by a step in which the starting materials are partly degraded through the use of carbohydrate-splitting enzymes at comparatively high temperatures of 80 to 95°C.

15      On completion of the enzymatic hydrolysis, it is advisable to adjust the reaction mixture to an acidic pH value, for example in the range from 2 to 5, by addition of mineral acid.

20      If the hydrolysis is carried out in the presence of calcium oxide or calcium hydroxide as base, soluble calcium peptides are formed and have to be separated from the undissolved calcium oxide or calcium hydroxide by filtration. If the alkali peptides are required, it is advisable to treat the calcium peptides with soda or potash solution and then to remove the poorly soluble calcium carbonate. The calcium may also be precipitated in the form of calcium sulfate or calcium oxalate. The poorly soluble salts are preferably removed by standard separation techniques for solid/liquid separation, such as filtration, separation and the like, preferably in the presence of filter aids.

25      Aqueous rice protein hydrolyzate solutions are obtained and, if required, may be concentrated, for example using falling film evaporators. The hydrolyzates obtainable by the process according to the invention have an average molecular weight in the range from 100 to 30,000, preferably in the range from 100 to 10,000 and more preferably in the range from 2,000 to 30      5,000 and a solids content of around 5 to 50% by weight.



### Commercial Applications

The vegetable rice protein hydrolyzates obtainable by the process according to the invention are distinguished by particularly favorable color quality and stability in storage. The rice protein hydrolyzates obtainable by 5 the process according to the invention may be used in surface-active formulations, preferably cosmetic and/or pharmaceutical formulations.

The rice protein hydrolyzates are also suitable for the production of light-colored, storage-stable derivatives such as, for example, N-acylated, N-alkylated, esterified derivatives and N-acylated or N-alkylated and, in 10 addition, esterified derivatives. To this end, they are preferably condensed in known manner with fatty acids or fatty acid chlorides containing 6 to 22 and, more particularly, 12 to 18 carbon atoms. The rice protein hydrolyzates are used with particular preference for the production of lauric acid or coconut oil fatty acid condensates.

15 The following Examples are intended to illustrate the invention without limiting it in any way.

### Examples

#### Example 1

20 3,500 l of warm water were introduced into a 5 m<sup>3</sup> stirred tank reactor and 4 kg of sodium sulfite and 10 kg of activated carbon were subsequently added. 450 kg of rice protein were added while stirring at maximum speed and the whole was stirred to form a suspension. The reaction mixture was heated to 75°C and stirred at that temperature for 15 mins. It was then cooled to 75°C and the pH value of the suspension was adjusted to pH 8.5 25 by addition of sodium hydroxide. The hydrolysis was initiated by addition of 5 kg of proteinase. After stirring for 3 h, during which the pH value was kept at 8.5 and the sulfite content was kept above 10 ppm, the pH value was adjusted to 4.0 by addition of citric acid. Following the addition of 15 kg of a 30 filter aid (Perlite® P50), the suspension was filtered in a filter press. 10 kg of



activated carbon were then added to the filtrate, followed by heating to 80°C. The mixture was stirred at that temperature for 15 minutes and was then cooled to 50°C. After stirring for another 30 mins. at 50°C, the mixture was again filtered in a filter press. The filtrate was concentrated to a content of around 35% Brix in a falling film evaporator and preserved by addition of a mixture of phenoxyethanol, sodium benzoate, pHB methyl and pHB ethyl ester. After storage for 14 days at room temperature, the reaction product was filtered in a filter press following the addition of another 10 kg of activated carbon and filter aid. The filtrate had a Lovibond color number of 0.3 (red) and 1.4 (yellow).

### Example 2

The procedure was as described in Example 1, except that the suspension of the rice protein hydrolyzate was first treated for 2 h at 100°C and at a pH of 6.0 with 4.5 kg of a carbohydrate-splitting enzyme. The suspension was filtered, the residue was resuspended in water and was then subjected to the protease treatment described in Example 1. A rice protein hydrolyzate with a Lovibond color number of 0.2 (red) and 1.2 (yellow) was obtained.



**CLAIMS**

1. A process for the production of rice protein hydrolyzates, in which protein-containing starting materials are hydrolyzed in the presence of proteinases at a pH value in the range from 8 to 10.
- 5 2. A process as claimed in claim 1, characterized in that the enzymatic hydrolysis is carried out in the presence of activated carbon.
3. A process as claimed in claims 1 and 2, characterized in that the hydrolysis is carried out first with carbohydrate-splitting enzymes and then with proteinases.
- 10 4. A process as claimed in claims 1 to 3, characterized in that, after the hydrolysis, the reaction mixture is adjusted to a pH value of 2 to 5.
5. The use of the rice protein hydrolyzates obtainable by the process claimed in claims 1 to 4 for the production of surface-active formulations.
6. The use of the rice protein hydrolyzates obtainable by the process claimed in claims 1 to 4 for the production of light-colored, storage-stable N-acylated, N-alkylated, esterified derivatives and N-acylated or N-alkylated and, in addition, esterified derivatives.
- 15



**New Claims 1 and 2**

1. A process for the enzymatic production of rice protein hydrolyzates under alkaline conditions, characterized in that rice proteins are hydrolyzed
  - 5 (a) first with carbohydrate-splitting enzymes and then
  - (b) with proteinases

at a pH value in the range from 8 to 10.

- 2. A process as claimed in claim 1, characterized in that the hydrolysis
- 10 is carried out in the presence of activated carbon.



## A Process for the Production of Wheat Protein Hydrolyzates

### Field of the Invention

This invention relates to a process for the production of wheat protein hydrolyzates, in which the multistage hydrolysis is carried out in the presence of selected enzymes, and to the use of the hydrolyzates for the production of light-colored, storage-stable derivatives.

5

### Prior Art

Degradation products of polypeptides, so-called protein hydrolyzates, have been known for some time. Although they do not have any detergent properties because of the absence of a lipophilic group, they are used in a large number of surface-active formulations by virtue of their dispersing properties and their ability favorably to influence the dermatological compatibility of anionic surfactants by interaction with the protein molecules of the skin. Relevant synoptic articles have been published, for example, by A. Domsch et al. in Ärztl. Kosmetol. 13, 524 (1983), by G. Schuster et al. in Cosmet. Toil., 99, 12 (1984) and by H. Lindner in Parfüm. Kosmet., 66, 85 (1985).

Protein hydrolyzates are normally obtained on the basis of animal collagen. In recent years, however, there has been an increasing trend towards vegetable products, for example based on wheat gluten or soya protein.

For example, the hydrolysis of vegetable proteins by special lactic acid bacteria in the presence of hydrocarbons is known from FR-A 25 42 013 (ABC). US 4,757,007 (Nissrin) describes the partial hydrolysis of soya proteins with proteases into fractions differing in their solubility in trichloro-



acetic acid, separation of the fractions at a pH value of 7, removal of non-hydrolyzed components and purification of the products by ultrafiltration. European patent application EP-A-0 187 048 (Novo) describes the enzymatic degradation of soya proteins by treatment with special proteases. The production of protein hydrolysates with an average molecular weight of 500 to 90,000 by step-by-step alkaline, acidic and/or enzymatic degradation of wheat or soya proteins is known from EP-A 0 298 419 (Katayama). Finally, EP-A 0 363 771 (Nestlé) reports on a process for the production of protein hydrolysates in which vegetable proteins are hydrolyzed with hydrochloric acid, non-hydrolyzed components are removed, the hydrolysates are alkalized to destroy unwanted chlorinated compounds and the resulting products are subsequently acidified.

However, one feature common to all known processes is that, when applied to the vegetable raw material wheat, they give products which, after chemical derivatization, for example after condensation with fatty acid chlorides, discolor and are not sufficiently stable in storage. One particular problem is, for example, that fatty acid condensates of known wheat protein hydrolysates show an unwanted tendency to cloud in aqueous solution.

Accordingly, the object of the present invention was to provide a solution to the problem of the inadequate stability in storage of derivatives based on wheat protein hydrolysates.

#### Description of the Invention

The present invention relates to a process for the production of wheat protein hydrolysates in which protein-containing starting materials are hydrolyzed first with proteinases and then with peptidases.

After extensive studies, applicants have found that the inadequate stability of the derivatives in storage is attributable to an unfavorable molecular weight distribution of the precursor, i.e. the wheat protein hydrolysates. Accordingly, the solution to the problem in question had to be



directed at the wheat protein hydrolyzate stage. It was surprisingly found that enzymatic degradation using carefully selected enzymes leads to hydrolyzates which, in turn, provide storage-stable derivatives and, more particularly, wheat protein fatty acid condensates which do not cloud in the form of an aqueous solution.

5

#### Three-stage enzymatic degradation

In one preferred embodiment of the process according to the invention, protein-containing starting materials, preferably wheat gluten, and corresponding chemically or enzymatically modified derivatives are

10

- (a) treated with proteinases first at a pH value of 2 to 5 and
- (b) then at a pH value of 8 to 10 and
- (c) finally, are hydrolyzed with peptidases at a pH value of 6 to 7.

15

In the context of the invention, protein-containing starting materials are understood to be protein isolates which are obtained, for example, by extraction of wheat flour using known methods and which may have a protein content of 70 to 90% by weight.

20

#### Proteinases and peptidases

Proteinases and peptidases belong to the group of proteases, i.e. enzymes, which catalyze the hydrolytic cleavage of the peptide bond and, accordingly, belong systematically to the hydrolases. Proteinases, which are also known as endoproteases or endopeptidases, cleave peptide bonds within the protein. They are different from the (exo)peptidases which promote degradation of the terminal peptide bond of the terminal amino or carboxyl group.

Typical examples of proteinases suitable for the purposes of the process according to the invention are the commercially available serine

30



proteinases (EC 3.4.21), cysteine or thiol proteinases (EC 3.4.22), acidic proteinases of the aspartate or carboxyproteinase type (EC 3.4.23) and - subordinately - metal proteinases (3.4.24). Examples of suitable serine proteinases are chymotrypsin, elastase, kallikrein, plasmin, trypsin, thrombin and subtilisin.

Suitable peptidases include, for example, the  $\alpha$ -aminoacyl peptide hydrolases or aminopeptidases (EC 3.4.11), which detach individual amino acids at the end of the polypeptide; the dipeptide hydrolases or dipeptidases (EC 3.4.13), which hydrolyze dipeptides to amino acids; the dipeptidyl peptide hydrolases or dipeptidyl peptidases (EC 3.4.14), which release the dipeptides in the amino position of a polypeptide; peptidyl dipeptide hydrolases or dipeptidyl carboxypeptidases (EC 3.4.15), which separate individual amino acids of the carboxy terminus; carboxypeptidases (EC 3.4.16 - 3.4.18) and  $\omega$ -peptidases (EC 3.4.19) which split off modified amino acids from both ends of the polypeptide.

Basically, the quantity in which the proteinases or peptidases are used is not critical although the quantities used should be in the range from 0.1 to 5% by weight and preferably in the range from 0.5 to 2% by weight, based on the starting materials.

20

#### Adsorbents

To remove traces of unwanted color formers, it has proved to be of advantage to introduce the protein-containing starting materials into the hydrolysis process together with suitable adsorbents. Suitable adsorbents are, for example, silica gels, aluminium oxides and - preferably - activated carbons which may be used in quantities of 0.1 to 15% by weight and preferably in quantities of 1 to 5% by weight, based on the nitrogen content of the protein-containing starting materials.

30 Carrying out the hydrolysis process



To carry out the enzymatic hydrolysis, an aqueous suspension of the protein-containing starting material - optionally together with the adsorbents described above - is degraded for 1 to 24 h at the optimum temperature and pH value of the proteinases and peptidases used, for example at 40 to 70°C.

5 It is of particular advantage to carry out the hydrolysis below the gelatinization temperature of the carbohydrates still present in the protein.

If the hydrolysis is carried out in the presence of calcium oxide or calcium hydroxide as base, soluble calcium peptides are formed and have to be separated from the undissolved calcium oxide or calcium hydroxide by filtration. If the alkali peptides are required, it is advisable to treat the calcium peptides with soda or potash solution and then to remove the poorly soluble 10 calcium carbonate. The calcium may also be precipitated in the form of calcium sulfate or calcium oxalate. The poorly soluble salts are preferably removed by standard separation techniques for solid/liquid separation, such as filtration, separation and the like, preferably in the presence of filter aids.

15

Aqueous wheat protein hydrolyzate solutions are obtained and, if required, may be concentrated, for example using falling film evaporators. The hydrolyzates obtainable by the process according to the invention have an average molecular weight in the range from 100 to 30,000, preferably in 20 the range from 100 to 10,000 and more preferably in the range from 2,000 to 5,000 and a solids content of around 5 to 50% by weight.

#### Commercial Applications

The vegetable wheat protein hydrolyzates obtainable by the process according to the invention are distinguished by particularly favorable color quality and, after derivatization, give substances which show particularly high stability in storage in aqueous solution. In particular, fatty acid condensates based on the wheat protein hydrolyzates obtainable by the process according to the invention can be processed to clear storage-stable aqueous solutions.

25

30 Accordingly, the present invention also relates to the use of the wheat



protein hydrolyzates obtainable by the process according to the invention for the production of light-colored, storage-stable derivatives such as, for example, N-acylated, N-alkylated, esterified derivatives and N-acylated or N-alkylated and, in addition, esterified derivatives.

5           The wheat protein hydrolyzates obtainable by the process according to the invention are preferably condensed in known manner with fatty acids or fatty acid chlorides containing 6 to 22 and, more particularly, 12 to 18 carbon atoms.—The wheat protein hydrolyzates are used with particular preference for the production of lauric acid or coconut oil fatty acid condensates.

10           The following Examples are intended to illustrate the invention without limiting it in any way.

### Examples

15           **Example 1**

3,500 l of warm water ( $T_{max} = 50^\circ\text{C}$ ) were introduced into a 5 m<sup>3</sup> stirred tank reactor and 1.3 kg of sodium sulfite and 14 kg of activated carbon were subsequently added. 650 kg of wheat protein isolate were added at 48-50°C while stirring at maximum speed and the whole was stirred to form a suspension. The pH value of the reaction mixture was then adjusted to pH 20 3.0 by addition of hydrochloric acid.

25           5 kg of proteinase with an optimum pH in the acidic range were then added. During the hydrolysis and the subsequent first filtration, the temperature was limited to a maximum of 50°C and the sulfite concentration was kept above 10 ppm. The pH value was initially kept at 3.0 by addition of hydrochloric acid and, after 2 h, was adjusted to 8.5 by addition of calcium hydroxide. At the same time, another 14 kg of activated carbon and 5 kg of proteinase with an optimum pH in the alkaline range were added. The reaction mixture was then stirred for another 2 h at around 50°C with no further pH correction. After the enzymatic hydrolysis steps, the pH value of 30



the mixture was adjusted to 7.5 by addition of calcium hydroxide. The hydrolyzate thus prepared was filtered in a filter press after addition of 70 kg of a filter aid (Perlite® P 50).

20 kg of Carbopol® GnP were then added to the filtrate, followed by heating to 80°C. This temperature was maintained for 15 minutes. The reaction mixture was then cooled to 50°C and stirred at that temperature for 30 ..... After addition of another 15 kg of the filter aid, the product was refiltered in a filter press. Finally, the calcium was precipitated by addition of soda and the calcium carbonate was removed in a filter press. The filtrate was concentrated to a content of 44% Brix in a falling-film evaporator. Finally, the concentrate was adjusted with sodium hydroxide to a pH value of 10 and, after storage for 5 days, was filtered in a filter press in the presence of 15 kg of filter aid.

15      **Example 2**

10 kg of the wheat protein hydrolyzate prepared in accordance with Example 1 were acylated in known manner with lauric acid chloride. The reaction product was adjusted to a dry matter content of 20% by weight and was stored for 3 weeks at 20°C and 40°C. After the period of storage, the product was clear at both temperatures and was substantially the same color.

20      **Comparison Example 1**

A commercial wheat protein hydrolyzate was acylated with lauric acid chloride as described in Example 2. A 20% by weight solution of the resulting wheat protein fatty acid condensate clouded after storage for only 1 week.



**CLAIMS**

1. A process for the production of wheat protein hydrolyzates, in which protein-containing starting materials are hydrolyzed first with proteinases and then with peptidases.
- 5 2. A process as claimed in claim 1, characterized in that protein-containing starting materials are
  - (a) treated with proteinases first at a pH value of 2 to 5 and
  - (b) then at a pH value of 8 to 10 and
  - 10 (c) finally, are hydrolyzed with peptidases at a pH value of 6 to 7.
3. A process as claimed in claims 1 and 2, characterized in that the three-stage enzymatic hydrolysis is carried out in the presence of activated carbon.
4. A process as claimed in claims 1 to 3, characterized in that the hydrolysis is carried out below the gelatinization temperature of the carbohydrates still present in the protein.
- 15 5. The use of the wheat protein hydrolyzates obtainable by the process claimed in claims 1 to 4 for the production of light-colored, storage-stable N-acylated, N-alkylated, esterified derivatives and N-acylated or N-alkylated and, in addition, esterified derivatives.
- 20



**New Claims 1 to 4**

1. A process for the production of wheat protein hydrolyzates, in which protein-containing starting materials are hydrolyzed
  - 5 (a) first at a pH value of 2 to 5 with proteinases,
  - (b) then at a pH value of 8 to 10 with proteinases and
  - (c) finally at a pH value of 6 to 7 with peptidases.
- 10 2. A process as claimed in claim 1, characterized in that the three-stage hydrolysis is carried out in the presence of activated carbon.
3. A process as claimed in claims 1 and 2, characterized in that the hydrolysis is carried out below the gelatinization temperature of the carbohydrates still present in the protein.
- 15 4. The use of the wheat protein hydrolyzates obtainable by the process claimed in claims 1 to 3 for the production of light-colored, storage-stable N-acylated, N-alkylated, esterified derivatives and N-acylated or N-alkylated and, in addition, esterified derivatives.



## Patent Application

**"Fine suspensions of poorly soluble calcium salts and  
their use in dental care products"**

5

The invention relates to fine suspensions of poorly soluble calcium salts which, because of their particle size in the nanometer range and their stability toward agglomeration, are particularly suitable for use in 10 dental care products.

Phosphate salts of calcium have for a long time been added either as abrasive components or to promote remineralization of tooth enamel to formulations of 15 dental cleaning products and dental care products. This is true particularly for hydroxylapatite and fluorapatite, and for amorphous calcium phosphates and for brushite (dicalcium phosphate dihydrate). However, calcium fluoride has also been described a number of 20 times as a constituent of dental cleaning products and as a component for strengthening tooth enamel and for the prophylaxis of caries.

The availability of these substances for the desired 25 remineralization depends quite decisively on the particle size of these poorly water-soluble components dispersed in the dental care products. It has therefore been proposed to use these poorly soluble calcium salts in extremely fine dispersion.

30

DE-A-2134862 discloses, for example, a dental care product for hypersensitive teeth which comprises very finely divided hydroxylapatite ( $\text{Ca}_5[(\text{PO}_4)_3\text{OH}]$ ) whose particle size, however, is given as 6-8  $\mu\text{m}$  35 (micrometers) since greater finenesses cannot be achieved by grinding.



Dental care products comprising separate components have also already been proposed, of which one comprises a dissolved Ca salt and the other comprises a dissolved phosphate or fluoride salt, and which are combined only 5 shortly prior to application - or which are used in succession - in order to apply the freshly precipitated and still amorphous or finely crystalline calcium salts to the tooth surface. The disadvantages of such handling are obvious since the user has to use two 10 products successively or combine them shortly before use. If compositions which comprise freshly precipitated, still amorphous calcium phosphates or calcium fluoride are stored, the precipitates age, the crystallites grow and agglomerate to give coarser 15 secondary particles. This reduces the remineralizing action and jeopardizes the stability of the dispersion.

The object was therefore to provide suspensions of such poorly soluble calcium salts whose particle size is in 20 the nanometer range and which are largely protected against agglomeration.

WO 94/04460 A1 describes a process for the preparation of amorphous calcium salts and their use for the 25 remineralization of teeth. EP 786245 A1 describes dental care products which comprise hydroxylapatite having particle sizes of from 0.05 to 1.0  $\mu\text{m}$  which are obtained by grinding. WO 98/18719 discloses a hydroxylapatite composition which comprises 30 hydroxylapatite with particle diameters of 10-20 nm and particle lengths of 50-100 nm and which are intended to be used, for example, in toothpastes. These are obtained by concentrating very dilute suspensions by two or more filtration steps.

35

EP 0499299 A2 discloses suspensions of particles of crystalline drugs which have a size of less than 100 nm and contain, adsorbed on their surface, a surface



modifier which may also be a surfactant or a polymeric protective colloid. Stabilization of inorganic poorly soluble salts obtained by precipitation reactions is not disclosed. WO 96/34829 A1 discloses a process for 5 the preparation of little-agglomerated particles in the nanometer range, in which a suspension of such particles is prepared from the precursors in a liquid medium which has no noteworthy solvency for the particles, in the presence of a surface-blocking substance. In another embodiment, a sol which comprises 10 amorphous or partially crystalline nanoparticles is suspended in the presence of the surface-blocking substance. Also named as surface-blocking substances are (poly)carboxylic acids and nonionogenic 15 surfactants. Disclosed as suitable particles are, however, only oxide (hydrates), sulfides, selenides, tellurides and phosphides precipitated from hydrolyzable salts or organometallic compounds by adding water or changing the pH. Phosphates or 20 fluorides of calcium or use of the suspensions in dental care products are not disclosed.

It has now been found that suspensions of poorly water-soluble calcium salts in very finely divided form can 25 be stabilized during the precipitation or shortly thereafter if the precipitation is carried out in the presence of an agglomeration inhibitor, or the dispersion is redispersed in the presence of the agglomeration inhibitor.

30

The invention therefore provides a suspension of poorly water-soluble calcium salts, chosen from phosphates, fluorides and fluorophosphates, in a liquid medium in which these calcium salts are insoluble or poorly 35 soluble, characterized in that the calcium salts are present in the form of primary particles having diameters of from 5 to 50 nanometers and lengths of from 10 to 150 nanometers and are stabilized against



agglomeration by a content of at least 0.01% by weight, based on the weight of the suspension, of a water-soluble surfactant or of a water-soluble polymeric protective colloid.

5

Poorly soluble or poorly water-soluble salts are to be understood as meaning those salts which are soluble in water or in the liquid suspension medium to an amount of less than 1 g/l (20°C). Suitable salts are 10 preferably calcium hydroxyphosphate ( $\text{Ca}_5[\text{OH}(\text{PO}_4)_3]$ ) or hydroxylapatite, calcium fluorophosphate, ( $\text{Ca}_5[\text{F}(\text{PO}_4)_3]$ ) or fluorapatite, F-doped hydroxylapatite of the general composition  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_3(\text{OH},\text{F})$  and calcium fluoride ( $\text{CaF}_2$ ) or fluorite (fluorspar).

15

A suitable liquid medium in which the calcium salts can be dispersed is primarily water. However, the calcium salt particles isolated from an aqueous suspension, e.g. by filtration or centrifugation, can also be 20 redispersed in organic solvents and, in this case, likewise produce suspensions of the primary particles in the nanometer range which have virtually no tendency for agglomeration. Suitable organic liquid media are, for example, water-soluble, lower alcohols and glycols, 25 polyethylene glycols, glycerol or mixtures thereof with one another or with water.

Primary particles are understood here as meaning the crystallites, i.e. the individual crystals, of said 30 calcium salts. The particle diameter should be understood here as meaning the smallest diameter, and the length to be understood as meaning the greatest diameter of the crystal particles, e.g. the length of a rod-shaped crystallite. Wherever an average particle 35 diameter is discussed, this is understood as meaning a volume-averaged value.



For the purposes of the present invention, water-soluble surfactants are understood as meaning all surface-active substances characterized by a lipophilic alkyl, alkylphenyl or acyl radical having 8-22 carbon atoms and a hydrophilic, ionic or nonionic group which imparts to the surfactant a solubility in water of more than 1 g/l (20°C). Suitable as anionic surfactants are, for example, the alkali metal or ammonium salts of C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub>-alkanecarboxylic acids (soaps), of alkyl-(C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>)  
5 sulfuric monoesters (alkyl sulfates), of alkylpolyglycol ether sulfuric monoesters (ether sulfates), of sulfosuccinic mono-C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub>-alkyl esters (sulfosuccinates), of alkanesulfonic acids (alkanesulfonates), of C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>-acyloxyethanesulfonic acids (isethionates), of C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>-acylaminoalkanesulfonic acids (taurides), of N-C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>-acylsarcosine (sarcosinates), of alkylpolyglycol ether carboxylic acids (ether carboxylates), of alkyl(polyglycol ether) phosphoric acids (alkyl(polyglycol ether) phosphate).

20 Suitable cationic surfactants are, for example, alkyltrimethylammonium chloride, alkylidimethylbenzylammonium chloride, alkylpyridinium chloride, alkylidimethylhydroxyethylammonium chloride,  
25 acylimidazolinium methosulfates and acyloxyethyltrimethylammonium chloride.

Suitable zwitterionic surfactants are, for example, betaine surfactants, such as, for example,  
30 alkylidimethylcarboxymethylbetaine and acylaminoalkylidimethylcarboxymethylbetaine.

Amphoteric surfactants, such as, for example, alkylaminopropanecarboxylic acids, are also suitable as  
35 ionic surfactants.

However, the nonionic surfactants are preferably suitable, in particular the addition products of



ethylene oxide to lipids with mobile hydrogen atoms. Such suitable nonionic surfactants are, for example, the addition products of 6-60 mol of ethylene oxide to linear fatty alcohols, to fatty acids, to fatty amines, 5 to fatty acid monoglycerides, to sorbitan fatty acid monoesters, to alkylphenols, to sugar fatty acid monoesters and to fatty acid monoethanolamides. Further preferably suitable nonionic surfactants are the alkyl (oligo) glucosides obtainable by reacting glucose with C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub>-fatty alcohols or by transacetylation of butyl(oligo) glucoside with fatty alcohols. Preferably suitable alkyl (oligo) glucosides are, for example, the alkyl (C<sub>8</sub>-C<sub>16</sub>) glucosides having average degrees of 15 oligomerization (of the glucoside radical) of from 1 to 2. Such products are [lacuna] commercially, e.g. under the trade name Plantacare® 1200 or Plantacare® 600. Further preferably suitable nonionogenic surfactants are the mixtures obtainable by ethoxylation of 20 hydrogenated castor oil which are obtained, for example, by the addition of 30, 40 or 60 mol of ethylene oxide to hydrogenated castor oil.

Finally, amine oxide surfactants and sugar fatty acid esters are also suitable as nonionogenic surfactants. 25

Water-soluble polymeric protective colloids are understood as meaning high molecular weight compounds which are adsorbed on the surface of the nanoparticles 30 and modify these such that they are hindered from coagulating and agglomerating. Suitable polymeric protective colloids are, for example, natural water-soluble polymers, such as, for example, gelatin, casein, albumin, starch, plant gums and water-soluble 35 derivatives of water-insoluble polymeric natural substances, such as, for example, cellulose ethers (methylcellulose, hydroxyethylcellulose, carboxymethylcellulose), hydroxyethylstarch or hydroxypropylguar.



Synthetic water-soluble polymers suitable as protective colloids are, for example, polyvinyl alcohol, polyvinylpyrrolidone, polyacrylic acids, polyaspartic acid and others.

The suspensions according to the invention are prepared by precipitation reactions from aqueous solutions of water-soluble calcium salts and aqueous solutions of water-soluble phosphate or fluoride salts. Here the precipitation is carried out in the presence of water-soluble surfactants or water-soluble polymeric protective colloids. This may, for example, be carried out by adding the surfactants or protective colloids to the aqueous phosphate or fluoride salt solution or to the solution of the calcium salt prior to the reaction. Alternatively, the aqueous calcium salt solution can be added to an aqueous surfactant or protective colloid solution at the same time as the phosphate or fluoride salt solution.

A further process variant involves the precipitation being carried out from a strongly acidic solution of a water-soluble calcium salt and a stoichiometric amount of a water-soluble phosphate salt with a pH below 3 by increasing the pH using an aqueous alkali or ammonia in the presence of water-soluble surfactants or water-soluble polymeric protective colloids.

The concentration of poorly soluble calcium salt in the suspensions according to the invention can cover a wide range from about 1 to 40% by weight. Here, the content can be increased on the one hand during the preparation by means of the concentration of the water-soluble salts, and on the other hand after the precipitation reaction by concentration, e.g. by filtration or centrifugation or by distilling off some of the water,



without the effect of the surfactant or of the protective colloid being lost in the process.

5 The concentration of the surfactant or of the polymeric protective colloid in the aqueous suspension is, for example, 0.1 to 20% by weight, preferably 0.1-10% by weight, based on the content of poorly soluble calcium salt. In a preferred embodiment, the suspension according to the invention therefore comprises 1-40% by 10 weight of the poorly soluble calcium salts and, for the stabilization, 0.1-10% by weight of a water-soluble surfactant or of a water-soluble polymeric protective colloid, based on the weight of the calcium salt.

15 Preferably suitable for the stabilization against agglomeration are predominantly the nonionic surfactants in an amount of from 1 to 10% by weight, based on the weight of the calcium salt. The nonionic surfactants of the type of alkyl C<sub>8</sub>-C<sub>16</sub>-(oligo)- 20 glucosides and of ethoxylates of hydrogenated castor oil have proven particularly effective. These can also be used together with the polymeric protective colloids for the stabilization.

25 For the preparation of suspensions according to the invention in other liquid media, it is expedient to start from aqueous suspensions according to the invention, free these by filtration or centrifugation from the aqueous phase, dry, where appropriate, the 30 nanoparticles and redisperse them in organic solvents. Here, a fresh addition of surfactants or protective colloids is no longer necessary since the nanoparticles comprise the amounts of stabilizer required for inhibition of agglomeration adsorbed on the surface.

35 The finely divided nature and stability of such suspensions is therefore comparable with those of the aqueous suspensions. Another possibility consists in mixing the aqueous suspension with a higher-boiling



solvent, e.g. with glycerol, and removing the water by distillation. Suitable as organic liquid medium is, particularly with regard to use in dental care products, primarily glycerol and its liquid mixtures 5 with sorbitol and optionally with water.

The suspensions according to the invention, in particular those of hydroxylapatite, fluorapatite and calcium fluoride, are suitable as remineralizing 10 component for the preparation of compositions for the cleaning and care of teeth. As a result of the particularly finely divided nature, the effect, known per se, of strengthening the tooth enamel and closing lesions and dentinal tubules can take place 15 particularly rapidly and completely. The compositions for the cleaning and care of teeth may here be in the form of pastes, liquid creams, gels or mouthwashes. Even in liquid preparations, the suspensions according to the invention disperse readily and the calcium salts 20 remain stably dispersed and do not tend toward sedimentation.

A preferred embodiment are, however, toothpastes with a content of silica, polishing agents, humectants, 25 binders and aromas which comprise 0.1-5% by weight of finely divided calcium salts from the group hydroxylapatite, fluorapatite and calcium fluoride in the form of a suspension according to the invention.

30 The preparations for the cleaning and care of teeth can comprise the customary components and auxiliaries of such compositions in the amounts customary for this purpose. For toothpastes, these are, for example,

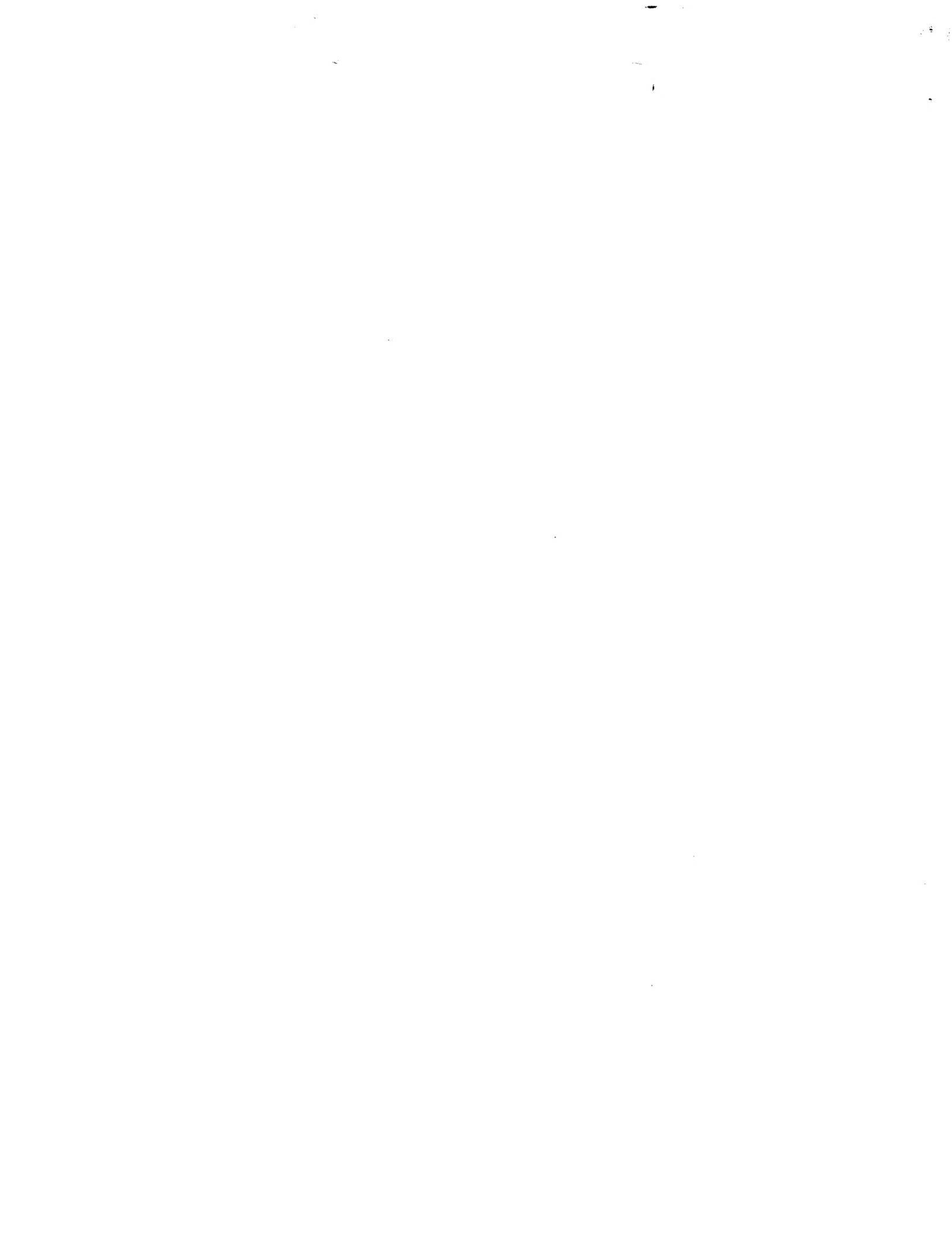
35 - cleaning and polishing substances, such as, for example, chalk, silicas, aluminum hydroxide, aluminum silicates, calcium pyrophosphate, dicalcium



phosphate, insoluble sodium metaphosphate or synthetic-resin powder

- humectants, such as, for example, glycerol, 1,2-propylene glycol, sorbitol, xylitol and 5 polyethylene glycols
- binders and consistency regulators, e.g. natural and synthetic water-soluble polymers and water-soluble derivatives of natural substances, e.g. cellulose ethers, phyllosilicates, finely divided silicas 10 (aerogel silicas, pyrogenic silicas)
- aromas, e.g. peppermint oil, spearmint oil, eucalyptus oil, aniseed oil, fennel oil, caraway oil, menthyl acetate, cinnamaldehyde, anethole, vanillin, thymol and mixtures of these and other natural and 15 synthetic aromas
- sweeteners, such as, for example, saccharin-sodium, sodium cyclamate, aspartame, acesulfame K, stevioside, monellin, glycyrrhicine, dulcin, lactose, maltose or fructose
- 20 - preservatives and antimicrobial substances, such as, for example, p-hydroxybenzoates, sodium sorbate, triclosan, hexachlorophene, phenylsalicylates, thymol etc.
- pigments, such as, for example, titanium dioxide or 25 pigment dyes for producing colored stripes
- buffer substances, e.g. primary, secondary or tertiary alkali metal phosphates, citric acid/Na citrate
- wound-healing and antiinflammatory active 30 ingredients, e.g. allantoin, urea, azulene, panthenol, acetylsalicylic acid derivatives, plant extracts, vitamins, e.g. retinol or tocopherol.

The examples below serve to illustrate the subject-matter of the invention in more detail:



**Examples****1. Preparation of suspensions of poorly soluble calcium salts**

5

**1.1 Preparation of a hydroxylapatite suspension by precipitation and redispersion**

50.86 g of  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  were dissolved in demin. water and made up to 200 ml. 10 g of Plantacare 1200® were added to this. 60 ml of 25% strength ammonia solution were then added, so that the pH was 12.

10 17 g of ammonium hydrogenphosphate with dissolved in demin. water and made up to 200 ml. 10 g of Plantacare 1200® were added to this. 60 ml of 25% strength ammonia solution were then added.

15 Both solutions were brought to 75°C and mixed with vigorous stirring. After stirring for one hour, the precipitate was centrifuged off, washed a number of times with water and then taken up in water to give a 20 5% strength by weight hydroxylapatite suspension. The particle sizes were 4-10 nm × 60-130 nm (diameter × length).

(demin. = demineralized)

**25 1.2 Preparation of a hydroxylapatite suspension by reprecipitation (pH shift) and concentration by evaporation**

25.43 g of  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  were dissolved in demin. water and made up to 100 ml. 8.5 g of ammonium 30 hydrogenphosphate were likewise dissolved in demin. water and made up to 100 ml. The solutions were combined, with formation of a voluminous precipitate. 37% strength hydrochloric acid was added dropwise to the suspension until the precipitate had completely 35 dissolved at pH 2.

A mixture of 200 ml of demin. water, 200 ml of 25% strength ammonia solution and 20 g of Cremophor RH 60® (BASF, castor oil + 60 EO) was initially introduced. At



0°C, the apatite solution was added dropwise to this solution with stirring, with formation of a precipitate. Excess ammonia was separated off by distillation, then the mixture was washed by means of 5 dialysis until nitrate-free. Concentration by evaporation on a rotary evaporator gave a 10% strength by weight suspension of hydroxylapatite. The particle sizes were 30 nm (volume-averaged) in diameter (determination using a Micro-Trac 3.150 Ultrafine 10 Particle Analyzer 150 by averaging over the total particle volume).

**1.3 Preparation of a suspension of hydroxylapatite analogously to Example 1.2 (starting from CaCl<sub>2</sub>)**

15 11.95 g of calcium chloride were dissolved in demin. water and made up to 100 ml. 7.4 g of ammonium hydrogenphosphate were likewise dissolved in demin. water and made up to 100 ml. The solutions were combined with formation of a voluminous precipitate. 20 37% strength hydrochloric acid was added dropwise to the suspension until the precipitate had completely dissolved at pH 2.

A mixture of 200 ml of demin. water, 200 ml of 25% strength ammonia solution and 20 g of Cremophor RH 60® 25 (BASF, castor oil + 60 EO) was initially introduced. At 0°C, the apatite solution was added dropwise to this solution with stirring, with formation of a precipitate. Excess ammonia was separated off by distillation, then the mixture was washed by means of 30 dialysis until nitrate-free. Concentration by evaporation on a rotary evaporator gave a 10% strength by weight suspension of hydroxylapatite. The particle sizes were 10-35 nm × 20-50 nm (diameter × length).

35 **1.4 Preparation of the hydroxylapatite suspension analogously to Example 1.2 using Arlatone 289 (BASF)**



Instead of 20 g of Cremophor RH 60, 35 g of Arlatone 289 were used. A 10% strength by weight suspension of hydroxylapatite with an average particle size of 40 nm was obtained. (Micro-Trac 3.150 Ultrafine Particle Analyzer).

**1.5 Preparation of a hydroxylapatite suspension in glycerol**

0.3 mol of calcium chloride were dissolved in 2000 ml of demin. water and thermostatted at 25°C. Ammonia solution was used to establish a pH of 12. Then, with vigorous stirring, a solution of 0.18 mol of ammonium hydrogenphosphate in 400 ml of demin. water, which was thermostatted at 25°C and had been adjusted to pH 10 using ammonia, was slowly added dropwise. After a reaction time of 20 h, 3 g of Cremophor RH 60® solution (40% strength by weight in demin. water) were added and dispersed by inputting chemical energy (stirring, ultrasound). The suspension was then centrifuged off a number of times and washed firstly with 1% strength aqueous Cremophor RH60® solution, then with ethanol. The material was then taken up in 100 ml of glycerol. Hydroxylapatite particles with sizes of 5-20 nm × 10-70 nm (diameter × length) were present in this glycerol suspension.

**1.6 Preparation of a suspension of fluorine-doped hydroxylapatite in glycerol**

0.3 mol of calcium chloride were dissolved in 2000 ml of demin. water and thermostatted at 25°C. Ammonia solution was used to establish a pH of 12. For this, a solution of 2.27 g of ammonium fluoride in 50 ml of demin. water was added. Then, with vigorous stirring, a solution of 0.18 mol of ammonium hydrogenphosphate in 400 ml of demin. water, which was thermostatted at 25°C and had been adjusted to pH 10 using ammonia, was slowly added dropwise. After a reaction time of 20 h, 3 g of Cremophor RH 60® solution (40% strength by



weight in demin. water) were added and dispersed by inputting chemical energy (stirring, ultrasound). The suspension was then centrifuged off a number of times and washed firstly with 1% strength aqueous Cremophor 5 RH60® solution, then with ethanol. The material was then taken up in 100 ml of glycerol. Here, a glycerol suspension of  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH},\text{F})$  particles with a size of 5-20 nm × 10-70 nm (diameter × length) was obtained.

10 1.7 Preparation of a calcium fluoride suspension by precipitation

11.95 g of anhydrous  $\text{CaCl}_2$  were dissolved in demin. water made up to 100 ml. 200 ml of demin. water, 35 g of Arlatone 289 (BASF) and 15 g of ammonium fluoride 15 were mixed in a receiver. Both solutions were cooled to 0°C and the first solution was added to the second with vigorous stirring. The dispersion formed was concentrated by evaporation on a rotary evaporator at 70°C until the solids content was 10% by weight. 20 Washing was then carried out by means of dialysis. This gave a calcium fluoride suspension with an average (volume-weighted) particle size of 20 nm.

2. Dental creams with calcium salt nanoparticles

25

Formulation examples	2.1	2.2
Sident® 8	10.0% by wt.	10.0% by wt.
Sident® 22S	7.0% by wt.	7.0% by wt.
Sipernat® 320DS	0.8% by wt.	0.8% by wt.
$\text{CaF}_2$ suspension Example 1.7	5.0% by wt.	-
Hydroxylapatite suspension Example 1.1	-	5.0% by wt.
Polywax 1550	2.0% by wt.	2.0% by wt.
Texapon K 1296	1.5% by wt.	1.5% by wt.
Titanium dioxide	1.0% by wt.	1.0% by wt.
Cekol 500 T	1.0% by wt.	1.0% by wt.
Na fluoride	0.33% by wt.	0.33% by wt.
Na benzoate	0.25% by wt.	0.25% by wt.



Aroma	1.0% by wt.	1.0% by wt.
Tagat S	0.2% by wt.	-
Na saccharinate	0.15% by wt.	0.15% by wt.
Trisodium phosphate	0.10% by wt.	0.10% by wt.
Sorbitol (70% strength in water)	31.0% by wt.	31.0% by wt.
Water	ad 100% by wt.	ad 100% by wt.

The following commercial products were used:

Plantaren® 1200: C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>-fatty alcohol oligo-(1.4)-glucoside about 50% by weight in water  
5 Manufacturer: HENKEL KGaA

Cremophor® RH 60: Castor oil (hydrogenated) poly(60)-glycol ether  
10 Manufacturer: BASF

Arlatone® 289: Castor oil (hydrogenated) poly(54)-glycol ether  
15 Manufacturer: Atlas Chemie (ICI)  
Sident® 8: Synth. amorph. silica, BET 60 m<sup>2</sup>/g  
Tamped density: 350 g/l  
Manufacturer: DEGUSSA

Sident® 22 S: Hydrogel silica, BET 140 m<sup>2</sup>/g  
Tamped density: 100 g/l  
Manufacturer: DEGUSSA

Polywax® 1550: Polyethylene glycol, MW: 1550  
Softening point 45-50°C  
20 Manufacturer: RWE/DEA

Texapon® K 1296: Sodium lauryl sulfate powder  
Manufacturer: HENKEL KGaA

Cekol® 500 T: Sodium carboxymethylcellulose  
Viscosity (2% strength in water,  
Brookfield LVF 20°C): 350-700 mPas  
Supplier: Nordmann-Rassmann  
25



Tagat® S:

Polyoxyethylene-(20) glyceryl  
monostearate  
Manufacturer: Tego Cosmetics  
(Goldschmidt)



**Patent claims**

1. A suspension of poorly water-soluble calcium salts, chosen from phosphates, fluorides and fluorophosphates, in a liquid medium in which these salts are insoluble or poorly soluble, characterized in that the calcium salts are present in the form of primary particles having diameters of from 5 to 50 nanometers and lengths of from 10 to 150 nanometers and are stabilized against agglomeration by a content of at least 0.01% by weight, based on the weight of the suspension, of a water-soluble surfactant or of a water-soluble polymeric protective colloid.
- 15 2. The suspension as claimed in claim 1, characterized in that 1 to 40% by weight of the poorly soluble calcium salts and, for the stabilization, 0.1 to 10% by weight, based on the weight of the poorly soluble calcium salt, of a water-soluble surfactant or of a water-soluble polymeric protective colloid are present in the suspension.
- 20 3. The suspension as claimed in claim 1 or 2, characterized in that, for the stabilization, nonionic surfactants are present in an amount of from 1 to 10% by weight, based on the weight of the poorly soluble calcium salt.
- 25 30 4. A process for the preparation of the suspension as claimed in claim 1-3 by precipitation processes from aqueous solutions of water-soluble calcium salts and aqueous solutions of water-soluble phosphate or fluoride salts, characterized in that the precipitation is carried out in the presence of water-soluble surfactants or water-soluble polymeric protective colloids.
- 35



5. A process for the preparation of the suspension as claimed in claim 1-3 by precipitation from an acidic solution of a water-soluble calcium salt and a stoichiometric amount of a water-soluble phosphate salt with a pH below 3 by increasing the pH using aqueous alkalis or ammonia in the presence of water-soluble surfactants or water-soluble polymeric protective colloids.

10 6. The use of the suspension as claimed in any of claims 1-3 as remineralizing component in compositions for the cleaning and care of teeth.

15 7. A toothpaste with a content of silica polishing agents, humectants, binders and aromas, characterized in that 0.1-5% by weight of fine calcium salts from the group amorphous calcium phosphate, hydroxylapatite, fluorapatite and calcium fluoride are present in the form of a suspension as claimed in claim 1-3.

20



PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION  
(PCT Rule 61.2)

Date of mailing: <b>11 January 2001 (11.01.01)</b>	To:  Commissioner US Department of Commerce United States Patent and Trademark Office, PCT 2011 South Clark Place Room CP2/5C24 Arlington, VA 22202 ETATS-UNIS D'AMERIQUE  in its capacity as elected Office
International application No.: <b>PCT/EP00/05813</b>	Applicant's or agent's file reference: <b>H 4086 PCT</b>
International filing date: <b>23 June 2000 (23.06.00)</b>	Priority date: <b>02 July 1999 (02.07.99)</b>
Applicant: <b>KROPP, Christian et al</b>	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

**23 November 2000 (23.11.00)**

in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

\_\_\_\_\_

2. The election  was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland  Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer:  J. Zahra Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---



**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

**PCT**

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>H 4086 PCT</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP 00/ 05813</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>23/06/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>02/07/1999</b>
Anmelder		
<b>HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

**1. Grundlage des Berichts**

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
  - Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.
- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das
  - in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.
  - zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
  - bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
  - bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
  - Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
  - Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2.  **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3.  **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

**4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung**

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

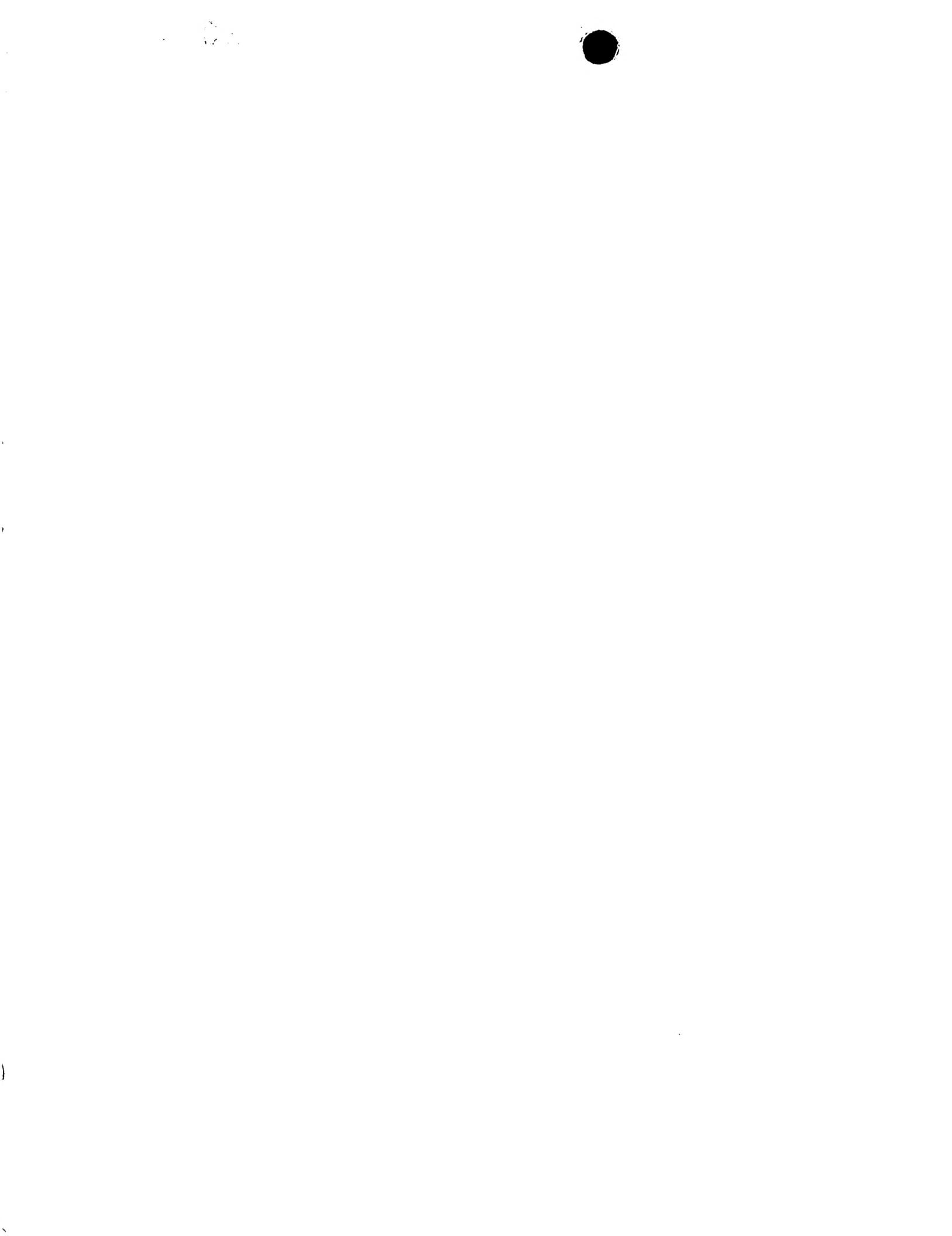
**5. Hinsichtlich der Zusammenfassung**

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

**6. Folgende Abbildung der Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. \_\_\_\_\_

- wie vom Anmelder vorgeschlagen
- weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
- weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

keine der Abb.



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05813

**A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 A61K7/16 A61K6/033 A61L27/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierte Mindestprästoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K A61L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprästoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal, CHEM ABS Data

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 514 210 A (K. HIROTA ET AL.) 7. Mai 1996 (1996-05-07) Spalte 2, Zeile 60 - Spalte 3, Zeile 8; Ansprüche 1-9; Beispiel 1 ---	1,3-5,8, 9,12,15
X	US 5 320 844 A (SUNG-TSUEN LIU) 14. Juni 1994 (1994-06-14) Ansprüche 1-17; Beispiel 1 ---	1,3-5,9, 10,12,15
X	US 5 783 217 A (D.D. LEE) 21. Juli 1998 (1998-07-21) Ansprüche 1,30-35; Beispiel 14 ---	1,3,9
P,X	US 6 013 591 A (J.Y. YING ER AL.) 11. Januar 2000 (2000-01-11) Ansprüche 1-44 ---	1 -/-

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

11. Januar 2001

23/01/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Willekens, G

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP 00/05813

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE CHEMICAL ABSTRACTS 'Online! Database accession no. 1998:56045 XP002156976 Zusammenfassung & JP 10 017449 A (SANGI CO) 20. Januar 1998 (1998-01-20) Zusammenfassung ---	1,3-5, 11,14
X	EP 0 786 245 A (SANGI CO) 30. Juli 1997 (1997-07-30) Ansprüche 1-16 ---	1,11,14
P,X	WO 00 03747 A (G. DOLCI ET AL.) 27. Januar 2000 (2000-01-27) Ansprüche 1-27 -----	1-6,11, 14

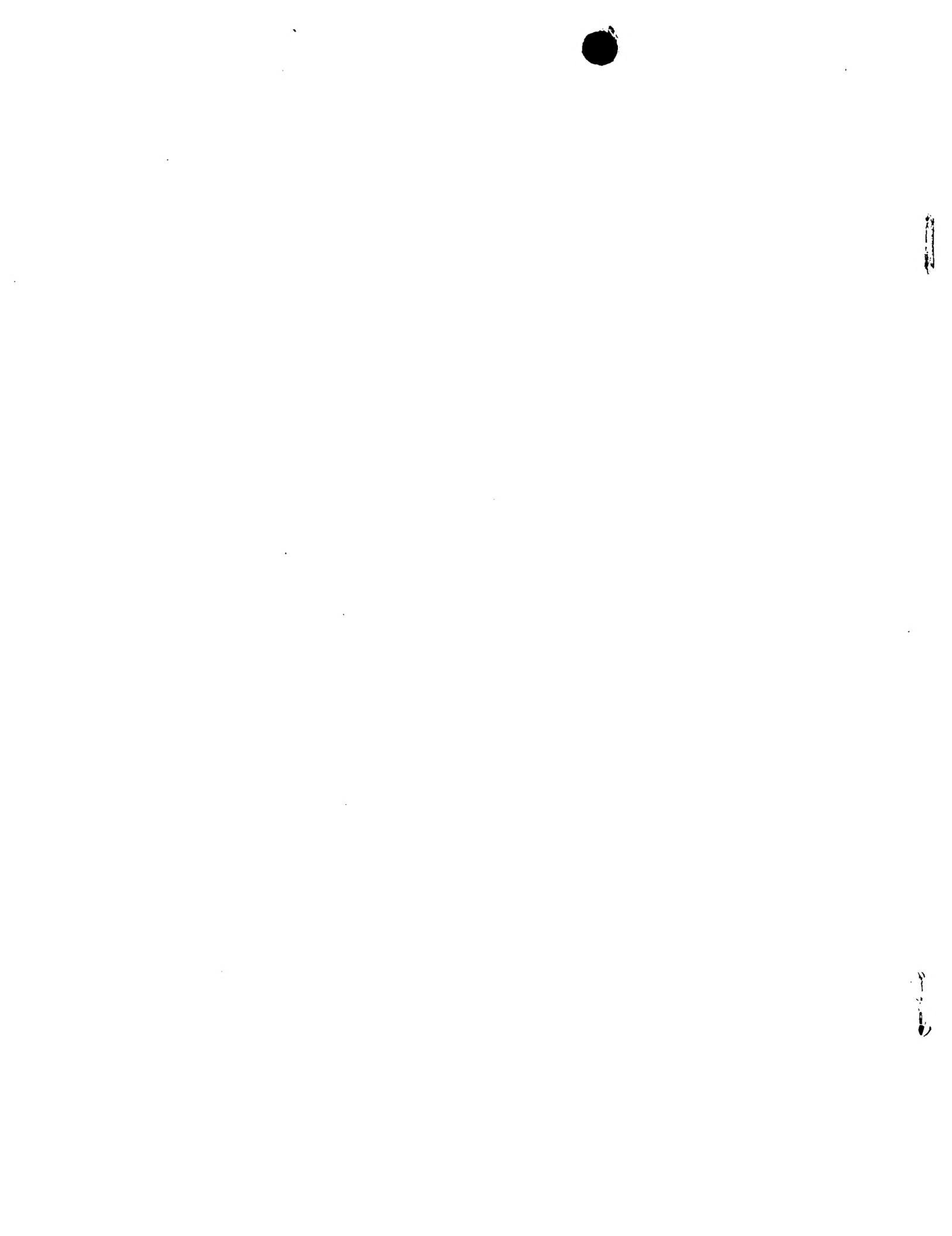
**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05813

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied( r) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 5514210	A	07-05-1996	JP	2775386 B JP 7101708 A	16-07-1998 18-04-1995
US 5320844	A	14-06-1994		KEINE	
US 5783217	A	21-07-1998	AU AU CA EP JP WO	713435 B 7723596 A 2236572 A 0859737 A 2000500110 T 9717285 A	02-12-1999 29-05-1997 15-05-1997 26-08-1998 11-01-2000 15-05-1997
US 6013591	A	11-01-2000		KEINE	
JP 10017449	A	20-01-1998		KEINE	
EP 786245	A	30-07-1997	JP US	9202717 A 5833959 A	05-08-1997 10-11-1998
WO 0003747	A	27-01-2000	IT AU	1299563 B 5191999 A	16-03-2000 07-02-2000



Translation

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

7

Applicant's or agent's file reference H 4086 PCT - HI	FOR FURTHER ACTION	See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/EP00/05813	International filing date (day/month/year) 23 June 2000 (23.06.00)	Priority date (day/month/year) 02 July 1999 (02.07.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 7/16		
Applicant HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 2 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I  Basis of the report
- II  Priority
- III  Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV  Lack of unity of invention
- V  Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI  Certain documents cited
- VII  Certain defects in the international application
- VIII  Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 23 November 2000 (23.11.00)	Date of completion of this report 30 October 2001 (30.10.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

## I. Basis of the report

## 1. With regard to the elements of the international application:\*

the international application as originally filed  
 the description:

pages \_\_\_\_\_ 1-25 \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

the claims:

pages \_\_\_\_\_ 6-15 \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
 pages \_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_ 1-5 \_\_\_\_\_, filed with the letter of 12 July 2001 (12.07.2001)

the drawings:

pages \_\_\_\_\_ 1/2,2/2 \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

the sequence listing part of the description:

pages \_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

## 2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).  
 the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).  
 the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

## 3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

contained in the international application in written form.  
 filed together with the international application in computer readable form.  
 furnished subsequently to this Authority in written form.  
 furnished subsequently to this Authority in computer readable form.  
 The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.  
 The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4.  The amendments have resulted in the cancellation of:

the description, pages \_\_\_\_\_  
 the claims, Nos. \_\_\_\_\_  
 the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

5.  This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**International application No.  
PCT/EP 00/05813**I. Basis of the report**

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

The amendments filed are in line with PCT Article 19 and  
PCT Article 34(2)(b).



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/EP00/05813

**III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability**

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

the entire international application.  
 claims Nos. 11-13

because:

the said international application, or the said claims Nos. 11-13 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

See annex

the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.  
 no international search report has been established for said claims Nos. \_\_\_\_\_

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

the written form has not been furnished or does not comply with the standard.  
 the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**International application No.  
PCT/EP 00/05813**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III

Claims 11 to 13 refer to subject matter that is covered by PCT Rule 67.1(iv) in the opinion of the Examining Authority. No expert opinion about the industrial applicability of the subject matter of these claims is therefore established (PCT Article 34(4)(a)(i)).



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/EP 00/05813

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability: citations and explanations supporting such statement

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-15	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-15	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-10, 14-15	YES
	Claims		NO

## 2. Citations and explanations

The PCT Contracting States do not have uniform criteria for assessing the industrial applicability of Claims 11 to 13 in their present form. Patentability may depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims to the medical use of a compound; it does, however, allow claims to the first medical use of a known compound or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical application.

This report makes reference to the following documents:

- D1 US-A-5 514 210 (K. HIROTA ET AL.) 7 May 1996  
(1996-05-07)
- D2 US-A-5 320 844 (SUNG-TSUEN LIU) 14 June 1994  
(1994-06-14)
- D3 US-A-5 783 217 (D.D. LEE) 21 July 1998 (1998-07-21)
- D7 DATABASE CHEMICAL ABSTRACTS [Online] Database accession no. 1998:56045 XP002156976 & JP-A-10 017449 (SANGI CO) 20 January 1998 (1998-01-20).

Claim 1 claims composite materials, comprising calcium salts, which are difficult to dissolve in water, are



selected from phosphates, fluorides and fluorophosphates, and are in the form of nanoparticulate primary particles with an average diameter of 10 to 300 nm, and protein constituents selected from proteins, protein hydrolysates and protein hydrolysate derivatives, characterised in that the calcium salts are in the form of **little rod-shaped primary particles.**

D1, the closest prior art, relates to implant material containing apatite and collagen, and the particle size of apatite is less than 500 nm (column 1, lines 6 to 8; Examples; claims). It differs from the application in that the calcium salts are in the form of crystal particles and not little rod-shaped primary particles. The technical aim was to provide a composite material for promoting the regeneration of bone and dental enamel that copies the microstructure of natural bone and dental material and is suitable in a satisfactory manner for remineralisation of these natural materials. This aim was achieved by a composite material made of calcium and a protein constituent according to Claim 1.

D2 discloses composite materials made of calcium phosphates and collagen (page 1, lines 6 to 7; page 2, lines 18 to 53). Composite materials made of calcium phosphates and proteins are also known from D3 (Claims 30, 33). However, D2 and D3 do not make any precise statements about the structure of the particles containing calcium. D7 also discloses a composition containing hydroxyl apatite and collagen for dental care. However, in D7 the particle size of apatite is between 1.0 and 5.0 µm. The above solution to the problem is not obvious to a person skilled in the art since the prior art does not suggest the particular structure of the composite materials. The method for producing composite materials, the use thereof and also the compositions containing composite materials



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.  
PCT/EP 00/05813

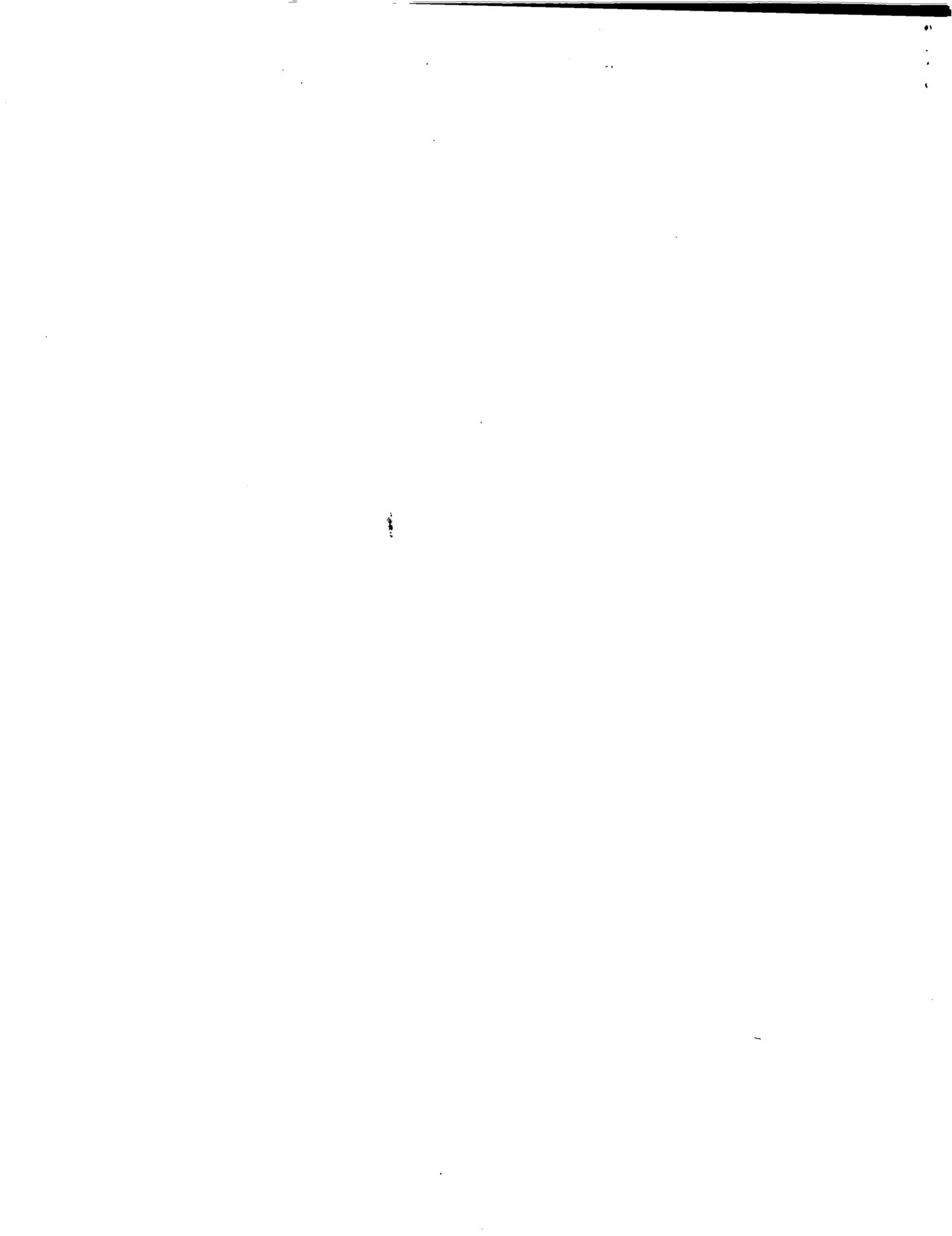
cannot be considered to be obvious for the same reason.  
For this reason the subject matter of Claims 1 to 15  
involves an inventive step (PCT Article 33(3)).



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**International application No.  
PCT/EP 00/05813**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not cite D1 to D3 and D7 or indicate the relevant prior art disclosed therein.



10/030268

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM  
GEBIET DES PATENTWESENS**

**PCT**

REC'D 01 NOV 2001

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT**

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

TII

Aktenzeichen des Annehmers oder Anwalts  H 4086 PCT - HI	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)
Internationales Aktenzeichen  PCT/EP00/05813	Internationales Anmelde datum (Tag/Monat/Jahr)  23/06/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag)  02/07/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK  A61K7/16		
Annehmer  HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN et al.		
<p>1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Annehmer gemäß Artikel 36 übermittelt.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).</p> <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.</p>		
<p>3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>I    <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts</li> <li>II    <input type="checkbox"/> Priorität</li> <li>III    <input checked="" type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit</li> <li>IV    <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung</li> <li>V    <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung</li> <li>VI    <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen</li> <li>VII    <input checked="" type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung</li> <li>VIII    <input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</li> </ul>		

Datum der Einreichung des Antrags  23/11/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  30.10.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 39 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Paloniemi Legland, R Tel. Nr. +49 89 2399 7315





**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/05813

**I. Grundlag des B richts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-25 ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

6-15 ursprüngliche Fassung

1-5 eingegangen am 14/07/2001 mit Schreiben vom 12/07/2001

**Zeichnungen, Blätter:**

1/2,2/2 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/05813

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- Beschreibung, Seiten:
- Ansprüche, Nr.:
- Zeichnungen, Blatt:

5.  Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- die gesamte internationale Anmeldung.
- Ansprüche Nr. 11-13 bezüglich gewerblicher Anwendbarkeit.

Begründung:

- Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 11-13 beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):  
**siehe Beiblatt**
- Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

- Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
- Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/05813

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**1. Feststellung**

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-10, 14-15
	Nein: Ansprüche	

**2. Unterlagen und Erklärungen  
siehe Beiblatt**

**VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:  
**siehe Beiblatt**



**Zu Punkt I**

**Grundlage des Berichts**

Die eingereichten Änderungen stehen im Einklang mit den Art. 19 und 34(2)b PCT.

**Zu Punkt III**

**Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

Die Ansprüche 11-13 beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Art. 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 11-13 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1: US-A-5 514 210 (K. HIROTA ET AL.) 7. Mai 1996 (1996-05-07)
- D2: US-A-5 320 844 (SUNG-TSUEN LIU) 14. Juni 1994 (1994-06-14)



D3: US-A-5 783 217 (D.D. LEE) 21. Juli 1998 (1998-07-21)

D7: DATABASE CHEMICAL ABSTRACTS [Online] Database accession no.  
1998:56045 XP002156976 & JP 10 017449 A (SANGI CO) 20. Januar 1998  
(1998-01-20)

In Anspruch 1 werden Kompositmaterialien, umfassend in Wasser schwerlösliche Calciumsalze, ausgewählt aus Phosphaten, Fluoriden und Fluorophosphaten, wobei die Calciumsalze in Form von nanopartikulären Primärteilchen mit einem mittleren Teilchendurchmesser von 10-300 nm, und Proteinkomponenten ausgewählt aus Proteinen, Proteinhydrolysaten und Proteinhydrolysat-Derivaten, dadurch gekennzeichnet, dass die Calciumsalze in Form von **stäbchenförmigen Primärteilchen** vorliegen, beansprucht.

Dokument D1 als nächster Stand der Technik betrifft Implantatmaterial, enthaltend Apatit und Kollagen, wobei die Teilchengröße von Apatit kleiner als 500 nm ist (Spalte 1, Zeile 6-8; Bsp.; Ansprüche). Es unterscheidet sich von der Anmeldung dadurch, dass die Calciumsalze in Form von Kristallpartikeln und nicht in Form von stäbchenförmigen Primärteilchen vorliegen. Die technische Aufgabe war, ein Kompositmaterial zur Förderung der Wiederherstellung von Knochen- und Zahnschmelz bereitzustellen, das die Mikrostruktur natürlichen Knochen- und Zahnmaterials nachahmt und in befriedigender Weise zur Remineralisation dieser natürlichen Materialien geeignet ist. Gelöst wurde diese Aufgabe durch ein Kompositmaterial aus einer Calcium- und einer Proteinkomponente gemäß Anspruch 1.

Dokument D2 offenbart Kompositmaterialien aus Calciumphosphaten und Kollagen (S.1, Z.6-7; S.2, Z.18-53). Aus D3 sind Kompositmaterialien aus Calciumphosphaten und Proteinen ebenfalls bekannt (Ansprüche 30, 33). In D2 und D3 werden aber keine genauen Aussagen zur Struktur der calciumhaltigen Partikel gemacht. D7 offenbart ebenfalls eine Zusammensetzung enthaltend Hydroxylapatit und Kollagen für Zahnpflege. In D7 ist aber die Partikelgröße von Apatit zwischen 1,0-5,0 µm. Die obige Lösung der Aufgabe ist für den Fachmann nicht naheliegend, da es im Stand der Technik keinerlei Hinweis auf die bestimmte Struktur der Kompositmaterialien zu entnehmen ist. Das Verfahren zur Herstellung von Kompositmaterialien, die Verwendung derselben wie auch die Zusammensetzungen enthaltend Kompositmaterialien gelten aus dem gleichen Grund als nicht naheliegend.



Aus diesem Grund beruht der Gegenstand der Ansprüche 1-15 auf einer erfinderischen Tätigkeit (Art. 33(3) PCT).

**Zu Punkt VII**

**Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

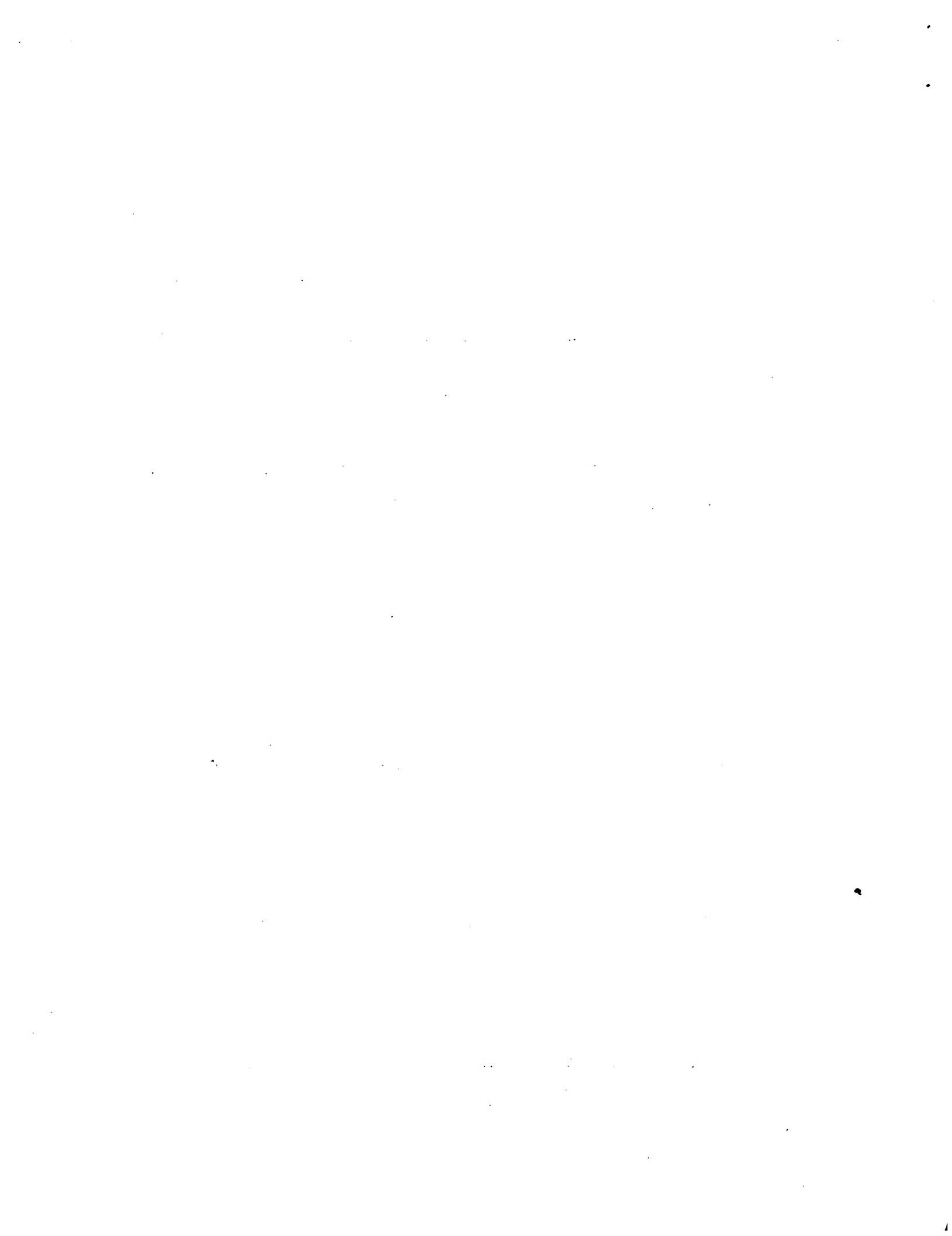
Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1-D3 und D7 offenbare einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.



**Ersatzseite 27****Patentansprüche****1. Kompositmaterialien umfassend**

- a) in Wasser schwerlösliche Calciumsalze, ausgewählt aus Phosphaten, Fluoriden und Fluorophosphaten, die wahlweise zusätzlich Hydroxyl- und/oder Carbonat-Gruppen enthalten können, wobei die Calciumsalze in Form von nanopartikulären Primärteilchen mit einem mittleren Teilchendurchmesser im Bereich von 10 bis 300 nm vorliegen, und
- b) Proteinkomponenten ausgewählt aus Proteinen, Proteinhydrolysaten und Proteinhydrolysat-Derivaten,
  - dadurch gekennzeichnet, daß die Calciumsalze in Form von stäbchenförmigen Primärteilchen vorliegen.

- 2. Kompositmaterialien gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die stäbchenförmigen Primärteilchen eine Dicke im Bereich von 2 bis 50 nm und eine Länge im Bereich von 10 bis 150 nm aufweisen.



**Patentspruch**

1. Kompositmaterialien umfassend
  - a) in Wasser schwerlösliche Calciumsalze, ausgewählt aus Phosphaten, Fluoriden und Fluorophosphaten, die wahlweise zusätzlich Hydroxyl und/oder Carbonat-Gruppen enthalten können, wobei die Calciumsalze in Form von nanopartikulären Primärteilchen mit einem mittleren Teilchendurchmesser im Bereich von 10 bis 300 nm vorliegen, und
  - b) Proteinkomponenten ausgewählt aus Proteinen, Proteinhydrolysaten und Proteinhydrolysat-Derivaten.
2. Kompositmaterialien gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Calciumsalze in Form von stäbchenförmigen Primärteilchen vorliegen mit einer Dicke im Bereich von 2 bis 50 nm und einer Länge im Bereich von 10 bis 150 nm.
3. Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteinkomponenten ausgewählt sind aus strukturbildenden Proteinen, Proteinhydrolysaten und Proteinhydrolysat-Derivaten.
4. Kompositmaterialien nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteinkomponenten ausgewählt sind aus Kollagen, Gelatine, Keratin, Casein, Weizenprotein, Reisprotein, Sojaprotein, Mandelprotein und deren Hydrolysaten und Hydrolysat-Derivaten.
5. Kompositmaterialien gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteinkomponenten ausgewählt sind aus Gelatine, Casein und deren Hydrolysaten.

**GEÄNDERTES BLATT**

